

**FERNANDO FABRIZ SODRÉ**

**ESPECIAÇÃO DO COBRE EM ÁGUAS NATURAIS:  
INFLUÊNCIA DE FATORES ASSOCIADOS À URBANIZAÇÃO**

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em ciências. Programa de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná

Orientador: Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi

**Agosto de 2005**

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais,

Ao amigo e orientador Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi,

Aos integrantes do Grupo de Química Ambiental,

À Profa. Dra. Orliney Maciel Guimarães,

Ao Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich,

Ao Prof. Dr. Lauro Dias Camargo Junior,

Ao Prof. Dr. Patricio Peralta-Zamora,

Ao Prof. Dr. Carlos Jorge da Cunha,

Ao Prof. Dr. Marcelo Aguiar,

Ao Prof. Dr. William Ferreira da Costa (DQ-UEM),

À Profa. Dra. Ana Teresa Lombardi (CEM-UFPR),

Ao pessoal do LabQAM,

À CAPES,

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFPR.

## RESUMO

Neste trabalho, foi avaliada a dinâmica e o comportamento do cobre em amostras de águas superficiais de rios localizados na Região Metropolitana de Curitiba (RMC). Durante um ano, foram realizadas coletas mensais nos Rios Iraí e Iguaçu, em pontos localizados à montante e jusante da cidade de Curitiba, respectivamente, como forma de avaliar o efeito da urbanização sobre aspectos tais como o aporte, a partição, a especiação e o comportamento do cobre, do ponto de vista geoquímico. Por meio da determinação de parâmetros físicos, químicos e hidrológicos, foi evidenciado um grau mais elevado de deterioração da qualidade das águas do Rio Iguaçu devido ao processo de urbanização. Neste rio também foram determinados os teores mais elevados de cobre total recuperável. A identificação das principais fontes de aporte do cobre para os rios estudados foi obtida por meio do tratamento multivariado dos dados. Desta forma, foi possível observar influências sazonais e espaciais no aporte do cobre para ambos os rios. Durante o período de maior pluviosidade, fontes difusas, tais como a drenagem urbana, exerceram um papel fundamental no aporte do cobre para estes corpos aquáticos. Entretanto, durante o período de menor pluviosidade, fontes pontuais foram as principais fontes de aporte do cobre, principalmente para o Rio Iguaçu, que também apresentou níveis mais elevados de cloreto e carbono orgânico dissolvido decorrentes, provavelmente, do aporte de esgoto bruto e tratado nas águas deste rio. Resultados obtidos para a distribuição do cobre na coluna de água revelaram que no Rio Iraí, o metal permaneceu preferencialmente na fração dissolvida, enquanto que no Rio Iguaçu, níveis mais elevados do cobre foram encontrados na fração particulada. A distribuição do metal em ambos os rios foi governada por processos distintos. No Rio Iraí, acredita-se que a presença de quantidades mais elevadas de colóides inorgânicos foi importante para a permanência do metal na fração dissolvida, enquanto que no Rio Iguaçu, o cobre permaneceu na fração particulada devido à presença de sólidos em suspensão ricos em matéria orgânica humificada. A avaliação da capacidade de complexação dos rios frente ao cobre mostrou resultados distintos para ambos os rios.

Enquanto que no Rio Iraí foi detectada a presença de matéria orgânica com sítios disponíveis à complexação, no Rio Iguaçu foi observada a presença de matéria orgânica de baixa reatividade. Utilizando procedimentos baseados na espectrofotometria de fluorescência molecular, também foi possível identificar diferenças quanto às características dos ligantes orgânicos presentes na fração dissolvida de amostras dos rios estudados. Neste caso, também foi observada a presença de matéria orgânica de baixa reatividade nas amostras do Rio Iguaçu, principalmente durante o período de menor precipitação.

## ABSTRACT

Copper behavior and dynamics in water bodies located in Curitiba's Metropolitan Region were evaluated in this work. Samples of Iraí and Iguaçu rivers were collected in points sited upstream and downstream the City of Curitiba, respectively, during a 12-months period. By this sampling regime we collected information regarding the influence of urban processes on copper loads, partition, speciation, and behavior under the geochemical viewpoint. Through systematic determinations of aquatic parameters we verified a high degree of pollution in Iguaçu River due to urbanization processes. Principal Component Analysis indicated seasonal and spatial effects on copper concentration and loads in both environments. During the rainy season, nonpoint sources such as urban runoff are believed to be the major source of copper in both cases. In contrast, during the lower precipitation period, the discharge of raw sewage seems to be the primary source of copper to the Iguaçu River, which also exhibited higher total metal concentrations. Partition and speciation analyses revealed that in Iguaçu River, copper was preferably bound to the particulate matter. This association seems to be enhanced due to the presence of humic substances covering the suspended particles of this river. On the opposite, in the Iraí River copper was preferably found in the dissolved phase due to a possible role of inorganic colloids. The evaluation of copper complexation demonstrated the presence of available ligands in the dissolved organic matter from Iraí River. In Iguaçu River, however, we observed the existence of low reactive organic matter in the dissolved phase. By using molecular fluorescence determinations we were able to perceive differences in the characteristics of the dissolved organic matter from both water bodies. In addition, it was possible to observe that the dissolved organic matter from Iguaçu River exhibited low reactivity, mainly during the less precipitation period.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1. Aporte de metais em águas naturais .....	17
1.2. Dinâmica de metais em águas naturais.....	21
1.3. Caracterização de amostras de águas naturais .....	34
1.3.1. <i>Caracterização espectroscópica por fluorescência molecular</i> .....	36
1.4. Preparo e manuseio de amostras de águas naturais.....	45
1.4.1. <i>Digestão de amostras</i> .....	46
1.4.2. <i>Técnicas limpas</i> .....	48
1.5. Objetivos.....	49
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>51</b>
2.1. Pontos de amostragem .....	51
2.2. Técnicas limpas.....	53
2.2.1. <i>Limpeza de materiais</i> .....	53
2.2.2. <i>Amostragem</i> .....	54
2.2.3. <i>Manipulação da amostra e de materiais</i> .....	54
2.3. Coleta das amostras .....	55
2.4. Digestão de amostras .....	55
2.4.1. <i>Otimização do procedimento de digestão</i> .....	57
2.5. Especiação do cobre.....	58
2.6. Capacidade de complexação das amostras frente ao cobre .....	60
2.7. Análises complementares .....	61
2.8. Capacidade de complexação por supressão de fluorescência.....	63
2.9. Experimentos de partição do cobre em amostras modelo.....	63
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>66</b>
3.1. Determinação de cobre por voltametria.....	66
3.2. Digestão de Amostras .....	68
3.2.1. <i>Testes de recuperação de cobre</i> .....	73
3.3. Caracterização das amostras de água dos rios Iraí e Iguaçu .....	76
3.4. Aporte de cobre nas águas dos rios Iraí e Iguaçu.....	81

3.5. Identificação das fontes de aporte de cobre empregando PCA.....	84
3.6. Especiação química do cobre .....	90
3.7. Capacidade de complexação dos rios frente ao cobre .....	102
3.8. Caracterização da matéria orgânica dissolvida natural empregando fluorescência.....	123
3.9. Capacidade de complexação da MOD por fluorescência .....	129
3.9.1. <i>Otimização de parâmetros experimentais e instrumentais</i> .....	130
3.9.2. <i>Capacidade de complexação da MOD dos rios Iraí e Iguaçu frente ao cobre</i>	140
<b>4. CONCLUSÕES .....</b>	<b>152</b>
<b>5. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>154</b>

## LISTA DE FIGURAS



Figura 1. Esquema representativo da distribuição do cobre em águas naturais. No destaque, formas do cobre no material particulado. Adaptado a partir de Florence (1982), Stumm e Morgan (1996), Williams (1999) e Twiss <i>et al.</i> (2001). .....	22
Figura 2. Voltamogramas obtidos durante a determinação de cobre por VRA. (A) Água marinha na presença EN 5 mmol L <sup>-1</sup> (pH~8) e (B) amostra acidificada até pH 2 (Scarano <i>et al.</i> , 1991). .....	33
Figura 3. Alguns procedimentos utilizados para a caracterização de amostras de águas naturais Adaptado de Burba <i>et al.</i> , 1998. ....	34
Figura 4. Espectro de emissão de fluorescência para uma solução de ácido húmico comercial. $\lambda_{exc} = 315$ nm. ....	39
Figura 5. Espectro de excitação-emissão obtido para uma solução de ácido húmico comercial. ....	40
Figura 6. Espectro de fluorescência sincronizada para solução de ácido húmico comercial. ( $\Delta\lambda = 18$ nm) .....	43
Figura 7. Espectros de fluorescência sincronizada obtidos para matéria orgânica dissolvida natural e para diferentes frações húmicas. ( $\Delta\lambda = 18$ nm). As linhas tracejadas verticais delimitam as diferentes regiões dos espectros (Peuravuori <i>et al.</i> , 2002). .....	44
Figura 8. Influência dos procedimentos de Técnicas Limpas para determinação cobre em efluente industrial (Hunt, 1997). .....	49
Figura 9. Localização dos pontos de amostragem à montante (Rio Iraí) e à jusante (Rio Iguaçu) da cidade de Curitiba. Os espaços sombreados  representam regiões fortemente urbanizadas e  indicam um segundo nível de urbanização. ....	51
Figura 10. Fotografias mostrando os locais de amostragem nos rios Iraí (A) e Iguaçu (B). ....	52
Figura 11. Representação esquemática do reator fotoquímico UV LAB EL 10 utilizado nos experimentos de fotodegradação. ....	56
Figura 12. Espectro de emissão para reator fotoquímico UMEX UV LAB EL 10. No detalhe, foto do reator em funcionamento no forno microondas. ....	56
Figura 13. Fluxograma do procedimento analítico adotado para a determinação da especiação do cobre em águas naturais. ....	59
Figura 14. Fluxograma do procedimento adotado para determinação da capacidade de complexação das amostras frente ao cobre .....	60
Figura 15. Fluxograma do procedimento utilizado para o preparo das suspensões representativas dos rios Iraí e Iguaçu. ....	64
Figura 16. Voltamogramas obtidos durante a determinação de cobre em uma amostra de água natural por VRAPD. Força iônica: 0,1 mol L <sup>-1</sup> ; $E_{dep} = -900$ mV (vs Ag/AgCl); $t_{dep} = 240$ s; amplitude do pulso = 50 mV; velocidade de varredura = 4 mV s <sup>-1</sup> . ....	66
Figura 17. Determinação da concentração do cobre pelo método de adição de padrão. ....	67



Figura 18. Espectros de fluorescência para uma solução 40 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico após diferentes tempos de irradiação com luz UV. ( $\lambda_{exc}$ : 315 nm e $\lambda_{em}$ : 440 nm). .....	69
Figura 19. Espectros de fluorescência para uma solução de AH 40 mg L <sup>-1</sup> após diferentes tempos de irradiação com luz UV e adição de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . ( $\lambda_{exc}$ = 315 nm e $\lambda_{em}$ = 440 nm). .....	70
Figura 20. Concentração relativa de ácido húmico (AH) expressa como porcentagem do sinal de emissão de fluorescência em 440 nm ( $\lambda_{exc}$ = 315 nm). (A) AH 40 mg L <sup>-1</sup> e (B) AH 40 mg L <sup>-1</sup> na presença de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . Amostras processadas em um tubo de ensaio de borossilicato (○) e no reator fotoquímico ativado por microondas (□) .....	72
Figura 21. Parâmetros aquáticos determinados nos rios Iraí (○) e Iguaçu (■) durante o período de amostragem. As linhas horizontais da caixa representam 25, 50 (mediana) e 75% dos valores; barras de erro indicam 5 e 95%; (X) expressa 1 e 99% e (-) corresponde aos valores máximos e mínimos. A media aritmética é representada pelos símbolos ○ e ■ .....	76
Figura 22. Teores de sólidos suspensos totais nas águas dos rios Iraí e Iguaçu durante os meses de março de 2002 a fevereiro de 2003. ....	80
Figura 23. Concentrações de cobre total recuperável nas águas dos rios Iraí e Iguaçu entre março de 2002 e fevereiro de 2003 e dados de precipitação mensal acumulada entre janeiro de 2002 e fevereiro de 2003. ....	81
Figura 24. Coeficientes de correlação entre as componentes principais 1 e 2 e os valores dos pesos. ....	87
Figura 25. Gráfico de <i>escores</i> e <i>pesos</i> para as componentes principais 1 e 2 geradas através da análise multivariada dos dados. ....	88
Figura 26. Voltamogramas obtidos para detecção de cobre por VRA em água Milli-Q. (A) 20 µg L <sup>-1</sup> de cobre (pH 2). (B) 5 µg L <sup>-1</sup> de cobre, 1,0 mmol L <sup>-1</sup> de EN em KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> . ....	91
Figura 27. Determinação do CuTD por VRA em uma amostra do Rio Iraí utilizando EN 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> (pH 8). Parâmetros utilizados: I: 0,1 mol L <sup>-1</sup> KNO <sub>3</sub> ; E <sub>dep</sub> : -0,6 V (vs Ag/AgCl); t <sub>dep</sub> : 900 s; ΔE: 50 mV; v: 4 mV s <sup>-1</sup> .....	92
Figura 28. Representação gráfica para a determinação de cobre lábil em amostras de águas naturais através da razão $I^0/I^{max}$ . ....	93
Figura 29. Espectros de RPE para o material particulado dos rios Iraí e Iguaçu. No detalhe, a linha de ressonância de radical livre orgânico em g = 2,0038. ....	96
Figura 30. Concentração relativa de cobre nas frações particulada, complexada dissolvida e lábil para as amostras coletadas nos rios Iraí e Iguaçu. ....	97
Figura 31. Coeficientes de partição do cobre ( $K_D$ ) em função dos teores de sólidos suspensos totais para o cobre presente nas águas dos rios Iraí e Iguaçu. ....	100
Figura 32. Curvas de titulação potenciométrica para uma amostra do Rio Iguaçu e representação dos gráficos de Scatchard para a fração dissolvida e amostra <i>in natura</i> . ....	103
Figura 33. Curvas de titulação potenciométrica para uma amostra do Rio Iraí e representação dos gráficos de Scatchard para a fração dissolvida e amostra <i>in natura</i> . ....	104

Figura 34. Constantes de estabilidades condicionais para amostras de água dos rios Iraí (símbolos abertos) e Iguaçu (símbolos fechados). Log $K_1$ são representados por quadrados e Log $K_2$ por círculos. ....	106
Figura 35. Capacidade de complexação nos rios Iraí e Iguaçu. As linhas horizontais da caixa representam 25, 50 (mediana) e 75% dos valores; barras de erro indicam 5 e 95%; (X) expressa 1 e 99% e (–) corresponde aos valores máximos e mínimos. A media aritmética é representada pelos símbolo □.....	108
Figura 36. Influência dos teores de carbono orgânico dissolvido na capacidade de complexação para os Rios Iraí e Iguaçu.....	109
Figura 37. Concentrações de cobre complexado em função do teor de carbono orgânico dissolvido para as águas dos Rio Iraí e Iguaçu.....	112
Figura 38. Espectros de RPE para (a) material particulado extraído por centrifugação e (b) sedimentos coletados nos Rios Iraí e Iguaçu. Na Figura “a”, em detalhe, linha de ressonância de radical livre orgânico em $g = 2,0038$ para amostra do Rio Iguaçu.....	113
Figura 39. Difrátogramas de raios-X para amostras de material particulado e sedimentos do (a) Rio Iguaçu e (b) Rio Iraí. Os difratogramas para os sedimentos foram obtidos em lâmina de aço inox, enquanto que o material particulado, em lâmina de vidro. Para melhor visualização dos sinais, as intensidades no difratograma para o material particulado, que apresentam menor relação sinal-ruído, estão mostradas com um aumento relativo de cinco vezes em comparação ao do sedimento. ....	115
Figura 40. Porcentagem de cobre adsorvido em função dos teores de sólidos suspensos totais para suspensões dos rios Iraí e Iguaçu.....	118
Figura 41. Partição do cobre em função dos teores de sólidos suspensos totais para suspensões dos rios Iraí e Iguaçu .....	120
Figura 42. Comparação entre os resultados obtidos para a partição de cobre em amostras de águas naturais do Rio Iraí e amostras sintéticas preparadas com sedimento coletado neste rio. ....	121
Figura 43. Espectros de emissão de fluorescência molecular obtidos para amostras dos rios Iraí (a) e Iguaçu (b). ( $\lambda_{exc}$ : 330 nm). (—) período de menor pluviosidade; (---) período chuvoso. ....	124
Figura 44. Espectros de fluorescência sincronizada obtidos para amostras dos rios Iraí (a) e Iguaçu (b). ( $\Delta\lambda_{exc}$ : 18 nm). período de menor pluviosidade; (---) período chuvoso. ....	125
Figura 45. Aromaticidade expressa em termos da razão $E_2/E_3$ em função da concentração de ácido húmico comercial para soluções preparadas com ácido húmico (AH) comercial e ácido fúlvico (AF) padrão. AH + AF = 100 %. ....	127
Figura 46. Intensidade de fluorescência relativa em 480 nm (modalidade sincronizada) em função da aromaticidade expressa em termos de $1/E_2:E_3$ para soluções preparadas com AH comercial e AF padrão. AH + AF = 100 %.....	128
Figura 47. Determinação do sinal de emissão fluorescência em 445 nm em função do tempo em uma solução de ácido húmico comercial 40 mg L <sup>-1</sup> . ( $\lambda_{exc}$ = 330 nm).....	130
Figura 48. Curva de supressão de fluorescência para soluções 40 e 13,8 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico comercial frente ao cobre monitorada em 440 nm. ....	131
Figura 49. Espectros de emissão de fluorescência obtidos em uma solução 30 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico natural ( $\lambda_{exc}$ = 330 nm). O espectro representado por uma linha	

tracejada foi obtido empregando fendas de Em/Exc = 5/5 nm. O espectro representado por uma linha contínua foi obtido com Em/Exc = 5/10 nm.....	133
Figura 50. Curva de supressão de fluorescência para solução 30 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico natural frente ao cobre empregando diferentes parâmetros instrumentais e monitoramento do sinal analítico por fluorescência de emissão ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ = 330/425 nm)134	
Figura 51. Curva de supressão de fluorescência para solução 30 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico natural frente ao cobre empregando diferentes parâmetros instrumentais e monitoramento do sinal analítico por fluorescência sincronizada ( $\Delta\lambda$ = 18 nm). Pico de máxima intensidade centrado em 460 nm.....	135
Figura 52. Espectros de emissão de fluorescência para uma solução 40 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico natural titulada com cobre. ....	136
Figura 53. Curva de supressão de fluorescência para solução 40 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico natural frente ao cobre. Modalidade emissão ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ = 330/450 nm). A linha cheia representa o ajuste da equação 13 sobre os dados.....	137
Figura 54. Espectros de fluorescência sincronizada para uma solução 40 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico natural titulada com cobre. ....	138
Figura 55. Curva de supressão de fluorescência para solução 40 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico natural frente ao cobre. Modalidade sincronizada ( $\Delta\lambda$ = 18 nm).....	139
Figura 56. Curva de supressão de fluorescência para a matéria orgânica dissolvida do Rio Iraí frente ao cobre. Modalidade emissão ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ = 330/425 nm).....	140
Figura 57. Curvas de supressão de fluorescência para a matéria orgânica dissolvida do Rio Iraí frente ao cobre para diferentes faixas espectrais. Modalidade sincronizada ( $\Delta\lambda$ = 18 nm). As regiões delimitadas no espectro são representadas por letras de acordo com Peuravouri e colaboradores (2002). Neste caso, A = 280 a 298 nm; B = 330 a 348 nm; C = 355 a 373 nm; D = 400 a 420 nm; F = 460 a 480 nm. ....	141
Figura 58. Curvas de supressão de fluorescência para a matéria orgânica dissolvida do Rio Iguaçu frente ao cobre para diferentes faixas espectrais. Modalidade sincronizada ( $\Delta\lambda$ = 18 nm). ....	142
Figura 59. Variação dos parâmetros de complexação obtidos para amostras do Rio Iraí em função da região espectral empregando-se fluorescência sincronizada .....	147
Figura 60. Variação dos parâmetros de complexação obtidos para amostras do Rio Iguaçu em função da região espectral empregando-se fluorescência sincronizada .....	148
Figura 61. Valores de I- <sub>ML</sub> obtidos para diferentes regiões espectrais empregando-se o modo sincronizado. Quadrados representam amostras do Rio Iguaçu; círculos representam amostras do Rio Iraí; símbolos cheios indicam amostras coletadas no período de menor pluviosidade; símbolos abertos correspondem às amostras coletadas no período chuvoso. ....	149

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Algumas técnicas empregadas na determinação da capacidade de complexação do cobre frente a substâncias húmicas aquáticas. ....	30
Tabela 2. Testes de recuperação para uma solução 20 mg L <sup>-1</sup> de ácido húmico comercial enriquecida com cobre (µg L <sup>-1</sup> ) e irradiada durante 6 min na presença de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . ....	73
Tabela 3. Testes de recuperação para suspensões enriquecidas com cobre (µg L <sup>-1</sup> ) e irradiadas durante 12 min na presença de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . ....	74
Tabela 4. Testes de recuperação para a fração dissolvida e para a amostra <i>in natura</i> de águas naturais, coletadas em janeiro de 2002, enriquecidas com cobre (µg L <sup>-1</sup> ). ....	75
Tabela 5. Parâmetros utilizados na análise de componentes principais. ....	85
Tabela 6. Variância capturada, em termos percentuais, para cada componente principal durante a análise multivariada. ....	86
Tabela 7. Valores de concentração de cobre, em µg L <sup>-1</sup> , e distribuição deste metal entre as frações particulada, dissolvida e lábil, nas águas dos rios Iraí e Iguaçu. ....	94
Tabela 8. Concentração de sítios ligantes (µmol L <sup>-1</sup> ) e constantes de estabilidade condicionais para as suspensões dos Rios Iraí e Iguaçu. ....	116
Tabela 9. Parâmetros de complexação para amostras dos rios Iraí e Iguaçu obtidos por fluorescência sincronizada em diferentes regiões espectrais. ....	144

## LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

<b>AF</b>	Ácido fúlvico
<b>AH</b>	Ácido húmico
<b>Alc</b>	Alcalinidade total
<b>APHA</b>	American Public Health Association
<b>COD</b>	Carbono orgânico dissolvido
<b>COMEC</b>	Coordenação da Região Metropolitana de Curitiba
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional do Meio Ambiente
<b>CP</b>	Componente principal
<b>CuTD</b>	Cobre Total Dissolvido
<b>CuTR</b>	Cobre Total Recuperável
<b>E</b>	Potencial
<b>ECP</b>	Efeito de concentração de partículas
<b>E<sub>dep</sub></b>	Potencial de deposição (voltametria)
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiaminotetraacético
<b>EN</b>	Etilenodiamina
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>IG</b>	Rio Iguaçu
<b>IHSS</b>	International Humic Substances Society
<b>IR</b>	Rio Iraí
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>K</b>	Constante
<b>K<sub>C</sub></b>	Coeficiente de partição (fração coloidal)
<b>K<sub>D</sub></b>	Coeficiente de partição
<b>L</b>	Ligante
<b>LVd</b>	Latossolo Vermelho <i>distroférico</i>
<b>MEE</b>	Matriz excitação-emissão
<b>OD</b>	Oxigênio dissolvido
<b>PCA</b>	Principal component analysis
<b>pH<sub>PCZ</sub></b>	pH no ponto de carga zero
<b>PIPES</b>	Piperazina-1,4-bis(2-ácido etanosulfônico)
<b>ppt</b>	Precipitação atmosférica
<b>PVC</b>	Polivinyll chloride

<b>RMC</b>	Região Metropolitana de Curitiba
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>RPE</b>	Ressonância Paramagnética de Elétrons
<b>rpm</b>	Rotações por minutos
<b>SANEPAR</b>	Companhia de Saneamento do Estado do Paraná
<b>SHA</b>	Substâncias Húmicas Aquáticas
<b>SMDE</b>	Static Mercury Drop Electrode
<b>SST</b>	Sólidos suspensos totais
<b>SUDERHSA</b>	Superintendência de Desenvolvimento de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental
<b>T</b>	Temperatura
<b><math>t_{dep}</math></b>	Tempo de deposição
<b>U.S. EPA</b>	United States Environmental Protection Agency
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>UV-VIS</b>	Ultravioleta-visível
<b>VRA</b>	Voltametria de redissolução anódica
<b>VRAPD</b>	Voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial
<b>WHO</b>	World Health Organization
<b>XRD</b>	X-Ray Diffraction
<b><math>\lambda</math></b>	Comprimento de onda

## 1. INTRODUÇÃO

A presença de espécies metálicas em águas naturais exerce um papel determinante na função biológica de muitos organismos. Alguns metais podem apresentar toxicidade elevada para muitas formas de vida, enquanto outros são considerados essenciais, porém podem ser tóxicos quando presentes em concentrações elevadas (Templeton *et al.*, 2000). Os efeitos de uma espécie metálica sobre a biota dependem fortemente das formas físicas e químicas do metal no sistema, ou seja, sua especiação (Campbell, 1995). Por exemplo, o cromo trivalente é considerado um elemento essencial para o controle do metabolismo da glucose, enquanto que o cromo hexavalente é extremamente tóxico para sistemas biológicos (Kotas e Stasicka, 2000).

Entretanto, a especiação não se restringe apenas à diferenciação entre estados de oxidação, mas também à distribuição de um elemento entre compostos orgânicos e inorgânicos de forma que possa afetar seu transporte, biodisponibilidade e, conseqüentemente, sua toxicidade (Templeton *et al.*, 2000). Desta maneira, o conhecimento da especiação de um metal representa o instrumento que mais subsidia a avaliação da toxicidade destas espécies.

A distribuição de metais na coluna de água é influenciada por diversos fenômenos físico-químicos tais como complexação, adsorção, dessorção, precipitação, redissolução, entre outros (Stumm e Morgan, 1996; Gerringa *et al.*, 1998; Botelho *et al.*, 2002; Vasconcelos *et al.*, 2002; Mansilla-Rivera e Nriagu, 2003). As interações de metais com a matéria orgânica dissolvida ou o material particulado em suspensão, por exemplo, levam à não-biodisponibilidade do metal (Allen e Hansen, 1996). Segundo, Takács e colaboradores (1999), a complexação do cobre pela matéria orgânica dissolvida pode alterar sua especiação e solubilidade. McGeer e colaboradores (2003) evidenciaram que a complexação por substâncias húmicas aquáticas atenuou a biodisponibilidade do cobre para peixes submetidos à exposição crônica com o metal. No caso do cobre, sua disponibilidade à biota é governada pela presença do íon livre em solução (Brown *et al.*, 1974; Chakoumakos *et al.*, 1979). Howarth e Sprague (1978), por exemplo,

observaram que a toxicidade do cobre para peixes está fortemente relacionada com a concentração do íon livre. Pagenkopf e colaboradores (1974) e Sunda e Guillard (1976) demonstraram que a toxicidade do cobre está relacionada à concentração do íon livre em solução e não a sua concentração total. Mais recentemente, entretanto, Meylan e colaboradores (2003) avaliaram a acumulação de cobre por algas em resposta a mudanças na especiação do metal em águas superficiais e concluíram que a concentração intracelular de cobre variou em função da forma trocável do metal, ou seja, a somatória entre as concentrações do íon livre e de complexos inorgânicos fracos. Todos estes estudos evidenciam que a especiação de metais é, portanto, uma questão da maior relevância uma vez que seu conhecimento pode ter implicações diretas sobre aspectos ecotoxicológicos.

A especiação de metais também é influenciada por variações da qualidade da água. Em grandes centros urbanos este quadro torna-se cada vez mais problemático, tanto com relação ao aporte de metais a partir das atividades antrópicas, quanto por meio da poluição decorrente do processo de urbanização. Goonetilleke e colaboradores (2005) enfatizam que a expansão do espaço urbano promove efeitos diretos nas características de ambientes aquáticos urbanos. Alonso e colaboradores (2004) avaliaram as características de águas da bacia do Rio Guadiamar, na Espanha, e verificaram que alterações provocadas pelo efeito da urbanização, tais como variações nos níveis de pH, carbono orgânico dissolvido, oxigênio dissolvido e sólidos em suspensão, afetaram a especiação de metais na coluna de água. Além disso, Cabaniss e Shumann (1988) verificaram que parâmetros como pH, alcalinidade total e força iônica podem ser mais importantes para a determinação do teor de cobre livre em águas naturais do que a avaliação das características dos ligantes capazes de complexar o metal. Dependendo das características do metal e também do corpo aquático o conhecimento da especiação pode assumir, em última instância, uma questão de saúde pública (Warren e Haak, 2001).

Devido à importância do conhecimento da especiação de metais em águas naturais, os padrões de qualidade de água nos Estados Unidos são



baseados, há mais de uma década, na fração solúvel do metal, e não em sua concentração total (U.S.EPA, 1992, Allen e Hansen, 1996). No Brasil, apenas recentemente os padrões de qualidade de água para corpos receptores, relacionados às espécies metálicas, foram estabelecidos com base na concentração total ou solúvel do metal na coluna de água (Conama, 2005). Antes disto, os padrões de qualidade de água eram fundamentados apenas na concentração total do metal (Conama, 1986). A definição da concentração do metal na fração dissolvida como critério para avaliação da qualidade de águas é um progresso, uma vez que, esta fração está mais intimamente vinculada à biodisponibilidade do metal do que sua concentração total (Pothro, 1993 *apud* Allen e Hansen, 1996).

### **1.1. Aporte de metais em águas naturais**

Os metais diferem das outras substâncias potencialmente tóxicas pelo fato de não serem produzidos ou destruídos pelo homem (Nriagu, 1996). Todavia, existe hoje um aumento considerável no aporte de espécies metálicas para águas naturais a partir de atividades antrópicas. A produção de novos compostos e o avanço tecnológico provocam a diminuição do tempo de permanência natural de metais em suas fontes majoritárias e, conseqüentemente, alteram a distribuição desses elementos no planeta. (Nriagu, 1990). Inúmeras atividades antrópicas contribuem para o aporte de espécies químicas em águas naturais. Assim como as atividades desenvolvidas pelo homem são muito variadas, também são as formas e os níveis de poluição que espécies antropogênicas podem provocar. Independentemente das fontes, o destino final destas espécies são, invariavelmente, os ambientes aquáticos naturais (Manahan, 1999).

Metais pesados aportam em sistemas aquáticos naturais por meio de fontes pontuais e difusas (Morales *et al.*, 1999; Grassi, 2001). As fontes pontuais são facilmente identificadas e diagnosticadas e, por este motivo, é possível estabelecer medidas de controle ou, em alguns casos, ações que visam punir os responsáveis pelo descarte de resíduos que não se enquadram à legislação vigente.

Fontes pontuais estão, geralmente, associadas ao descarte de efluentes a partir estações de tratamento de efluentes industriais, estações de tratamento de esgoto e fossas sépticas. Markich e Brown (1998) avaliaram a qualidade das águas nos rios Hawkesbury e Nepean na Austrália e observaram que a concentração de nutrientes, carbono orgânico e metais pesados aumentaram em função das atividades antrópicas, particularmente, por meio de fontes pontuais.

Metais também podem surgir a partir do descarte de esgoto bruto, principalmente em regiões densamente urbanizadas (WHO, 1998). O esgoto bruto pode provocar a deterioração de ambientes aquáticos urbanos por meio do aporte de compostos antropogênicos que, por sua vez, podem afetar a concentração e distribuição de metais na coluna de água. Krusche e colaboradores (2002) observaram que o aporte de esgoto bruto e tratado foi responsável pelo enriquecimento de nitrogênio no material particulado orgânico e pelo aumento na taxa de crescimento da comunidade fitoplancônica na Bacia do Rio Piracicaba, em São Paulo. Nesta mesma região, Williams e colaboradores (2001) mostraram que o aporte de esgoto bruto foi o principal aspecto responsável pela deterioração da qualidade das águas mesmo considerando uma ocupação de cerca de 5% da bacia por áreas urbanizadas. Segundo os autores, nesta região, apenas 16% do esgoto doméstico recebia tratamento, o que representava um aporte constante de matéria orgânica nas águas localizadas em regiões urbanas.

Segundo a mais recente pesquisa nacional de saneamento básico (IBGE, 2002), 52,2% dos municípios brasileiros recebem algum tipo serviço de esgotamento sanitário. Destes, 66,2% não dão qualquer tipo de tratamento ao esgoto produzido, que é despejado *in natura* nos corpos de água ou no solo, comprometendo a qualidade da água utilizada para o abastecimento, irrigação e recreação. Do total de distritos que não tratam o esgoto sanitário coletado, a grande maioria, 84,6% despeja o esgoto nos rios. Na cidade de Curitiba, por exemplo, apenas 8% do esgoto coletado recebem tratamento. Neste caso, aproximadamente 147 mil m<sup>3</sup> de esgoto bruto são descartados diariamente em rios localizados na região urbana.

Ao contrário das fontes pontuais, as fontes difusas, ou não-pontuais, são aquelas cuja origem não pode ser facilmente identificada. Emissões difusas ocorrem em extensas áreas e, associadas à chuva e ao escoamento que dela resulta, chegam aos corpos de água de forma intermitente (Novotny e Chesters, 1981; Bunce, 1994). Devido a estas características, a identificação destas fontes constitui um grande desafio em estudos ambientais.

As principais fontes que contribuem para o aporte de contaminantes de maneira difusa são a deposição atmosférica úmida e seca (Wu *et al.*, 1992), a lixiviação de compostos do solo e a drenagem de águas pluviais em ambientes rurais e urbanos (Mitchell, 2005). Em áreas rurais, as cargas difusas podem surgir a partir de atividades agrícolas por meio da contaminação da água por fertilizantes ou pesticidas aplicados ao solo (Gonçalves *et al.*, 2000). Em regiões urbanas, as águas de drenagem podem carrear uma grande variedade de espécies potencialmente tóxicas para corpos aquáticos receptores. Além disso, devido à elevada impermeabilização do solo, a taxa de infiltração da água é diminuída e, conseqüentemente, o escoamento na superfície torna-se maior (Mota, 1999; Tucci, 2003). Segundo Taebi e Droste (2004), o escoamento das águas de drenagem em áreas urbanas pode ser responsável pela aceleração da erosão das margens dos rios, pelo aumento das taxas de eutrofização em ambientes lacustres e pela diminuição na qualidade da água dos corpos receptores à jusante, ou mesmo dentro de áreas urbanas.

Em países mais desenvolvidos, onde a questão do tratamento de esgotos já foi parcial ou totalmente resolvida, o maior problema relacionado à poluição de corpos aquáticos naturais reside no controle das fontes difusas (Tsihrintzis e Hamid, 1997; D'Arcy e Frost, 2001). Nos Estados Unidos, por exemplo, a ocorrência de fontes difusas é o principal motivo pelo qual cerca de 40% dos rios, lagos e estuários não se encontram limpos o suficiente para pesca e recreação (U.S.EPA, 2005). No Brasil, as águas de drenagem urbana não recebem nenhum tipo de tratamento antes de atingir os corpos aquáticos receptores. Neste caso, a poluição de corpos aquáticos é quase que exclusivamente associada às fontes pontuais. Entretanto, mesmo em países que ainda enfrentam o tratamento de suas

fontes pontuais, a descarga que surge a partir de um grande evento de chuva pode impactar mais um corpo de água do que uma carga normal de efluente sanitário (Taebi e Droste, 2004).

As águas de drenagem urbana podem conter uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, partículas sólidas e quantidades expressivas de metais (Barret *et al.*, 1998; Wu *et al.*, 1998;). Segundo Davis e colaboradores (2001), os teores de metais encontrados nestas águas são maiores para o zinco, com valores da ordem de 20 a 5.000  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; seguido do chumbo e do cobre, com níveis na faixa de 5 a 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ , e do cádmio, com concentrações menores que 12  $\mu\text{g L}^{-1}$ . As fontes de liberação de metais nas águas de drenagem urbana são numerosas e os mecanismos de liberação são complexos. As atividades de tráfego são consideradas as principais fontes geradoras de metais (Boller e Steiner, 2002; Ellis *et al.*, 2004). Davis e colaboradores (2001) verificaram que o desgaste de pneus dos automóveis é uma fonte significativa de zinco e cádmio; e o desgaste de freios pode ser uma fonte de liberação de cobre, alumínio, níquel e cromo. Além disso, a ação do tempo e da atmosfera sobre os materiais empregados na construção civil também pode provocar a corrosão e liberação de metais (Boller, 2003; Boller e Steiner, 2002). Chebbo e Gromaire (2004) evidenciaram que a drenagem que surge a partir de telhados em áreas residenciais são fontes significativas de cobre e cádmio.

As abordagens empregadas para a monitoração das fontes difusas consistem, basicamente, na quantificação da espécie de interesse na própria fonte. Pouca atenção é dada à identificação das fontes com base no conteúdo de contaminantes que surgem nos corpos aquáticos naturais por meio das fontes difusas. Entretanto, algumas pesquisas relatam a possibilidade de identificação das fontes de poluição por meio da avaliação da qualidade de águas naturais empregando ferramentas quimiométricas (Petersen *et al.*, 2001; Wunderlin *et al.*, 2001). Empregando a análise de componentes principais, Bengraïne e Marhaba (2003) evidenciaram a presença de fontes pontuais e difusas de poluição por meio do monitoramento de parâmetros físicos, químicos e biológicos em doze pontos de amostragem localizados no Rio Passaic em Nova Jersey (EUA). Perona e

colaboradores (1999) monitoraram 22 parâmetros físico-químicos no Rio Pisuerga, na Espanha, e por meio de técnicas quimiométricas, observaram que os níveis de minerais nas águas deste rio eram de procedência natural e variavam em função do clima e da época do ano. Entretanto, os níveis de matéria orgânica e nutrientes foram atribuídos ao descarte de efluentes municipais.

A descarga de metais em águas naturais a partir de fontes difusas ou pontuais pode promover alterações significativas nos comportamentos físico, químico e biológico, tanto do corpo receptor (Vega *et al.*, 1998) como do próprio metal (Velásquez *et al.*, 2002; Witters, 1998). Essas alterações podem ser divididas em duas categorias: (i) efeito do ambiente sobre o metal e (ii) efeito do metal sobre o ambiente. A primeira categoria enfatiza condições nas quais as águas receptoras podem influenciar a especiação e a toxicidade dos metais. Tais condições incluem a distinção da entrada de material antropogênico e geoquímico, qualidade dos efluentes industriais, concentração de ligantes e os teores de sólidos suspensos. O efeito do metal na resposta biológica é enfatizado na segunda categoria. Dependendo das condições ambientais, o metal pode alterar a densidade, a diversidade, a estrutura da comunidade e a composição das espécies de populações. O grau de variação dependerá da concentração de metais na água e, igualmente, no sedimento. As mudanças nas características do meio aquático pelo aporte de espécies metálicas antropogênicas podem provocar efeitos deletérios à biota aquática. Considerando as interdependências entre organismos aquáticos, estas modificações sempre proporcionam desequilíbrios ecológicos (Hudson, 1998).

## **1.2. Dinâmica de metais em águas naturais**

A distribuição, o transporte e a biodisponibilidade de metais em ambientes aquáticos são primariamente controlados pelo sedimento e pela coluna de água, respectivamente. A mobilização de metais depende da textura física e da natureza química do sedimento, na qual sua variação determina a quantidade e a força de ligação do metal. A composição físico-química da coluna de água determina os mecanismos de associação do metal, tais como na forma particulada, coloidal,

iônica dissolvida e complexada dissolvida. Frequentemente, metais encontram-se associados a diversos tipos de ligantes naturais ou antropogênicos que podem governar a distribuição e a especiação das espécies metálicas em corpos aquáticos. A Figura 1 apresenta, de maneira simplificada, as possíveis formas nas quais o cobre, por exemplo, pode ser encontrado em águas naturais.

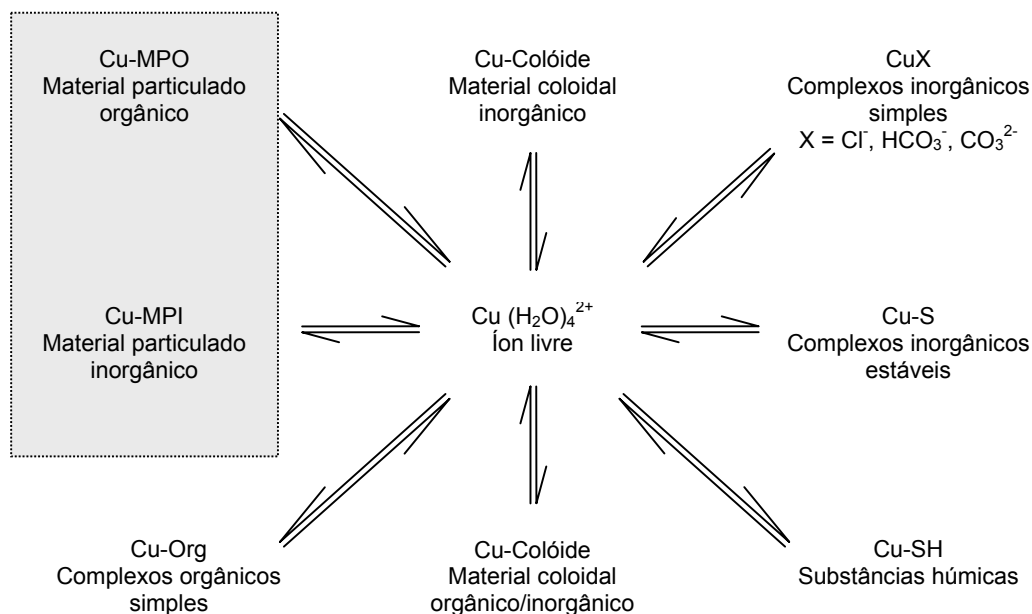


Figura 1. Esquema representativo da distribuição do cobre em águas naturais. No destaque, formas do cobre no material particulado. Adaptado a partir de Florence (1982), Stumm e Morgan (1996), Williams (1999) e Twiss *et al.* (2001).

Na Figura 1 pode-se observar a distinção entre o cobre presente no material particulado, na caixa sombreada, e as demais formas de distribuição do metal na coluna de água. A separação destas frações é arbitrária e dependente de condições operacionais (Benoit *et al.*, 1994; Benoit e Rozan, 1999). Considera-se como dissolvida toda espécie que é separada de uma amostra de água natural por meio da filtração em uma membrana de  $0,45 \mu\text{m}$  de porosidade (Templeton, 2000). Florence (1982) sugere que o termo apropriado para esta fração seria “filtrável”, uma vez que colóides também são contabilizados nesta fração. Burba e colaboradores (1998) sugerem que, mesmo considerando que abaixo do limite de  $0,45 \mu\text{m}$  sólidos orgânicos e inorgânicos encontram-se presentes em águas

naturais, o termo “partícula” deve ser designado apenas para componentes com tamanho superior a 0,45 µm.

Na fração particulada o cobre pode ser encontrado junto a partículas orgânicas ou inorgânicas. Segundo Sigg (1998) partículas orgânicas maiores que 0,45 µm podem surgir a partir da decomposição de organismos aquáticos ou por meio dos produtos de degradação destes organismos (Sigg, 1998). Além disso, fitoplânctons, algas e bactérias, também podem interagir com o cobre nesta fração por meio da absorção do metal ou ainda pela formação de complexos em grupos funcionais presentes na superfície protéica celular (Sigg, 1998). Dependendo das condições naturais, algas e fitoplânctons podem regular a concentração de íons metálicos na coluna de água (Bruland *et al.*, 1991). Segundo Warren e Haack (2001) a capacidade de sorção de bactérias frente a vários metais depende dos tipos e da concentração dos grupos funcionais presentes na parede celular. Grupos carboxílicos e fosforílicos, com  $pK_a$  de 4-6 e 7, respectivamente, conferem à parede celular um rede de cargas aniônicas na maioria dos ambientes aquáticos naturais e contribuem para a interação com cátions metálicos.

A adsorção do cobre na fração particulada também pode ocorrer por meio da associação do metal junto ao material inorgânico. Neste caso, o cobre pode ser adsorvido junto a partículas minerais tais como oxi-hidróxidos de ferro, manganês e alumínio assim como argilominerais silicatados (Harsh e Doner, 1984; Sigg, 1994; Sigg, 1998). Martinez e McBride (1998) sugerem que a incorporação de metais em sólidos minerais pode ocorrer por meio de vários mecanismos tais como reações de troca iônica (adsorção não-específica), adsorção específica em grupos hidroxila (complexação superficial), co-precipitação e precipitação como óxidos ou hidróxidos simples.

De uma maneira geral, oxi-hidróxidos de ferro são os minerais mais abundantes em águas naturais. Por este motivo, eles desempenham um papel substancial no comportamento de metais na coluna de água (Honeyman e Santschi, 1988). Entretanto, outras partículas inorgânicas podem atuar no comportamento geoquímico de metais em águas naturais, dependendo de sua reatividade e concentração.

Apesar da maior abundância de oxi-hidróxidos de ferro, outros minerais como oxi-hidróxidos de manganês podem apresentar maior reatividade em alguns ambientes aquáticos (Tessier *et al.*, 1996; Nelson *et al.*, 1999). Vários aspectos podem influenciar a sorção de metais em partículas inorgânicas, entre eles a cristalinidade (Martinez e McBride, 1998), a quantidade de superfícies irregulares ou impurezas (Webster *et al.*, 1998), a dimensão e o recobrimento da partícula com matéria orgânica biótica ou abiótica (Brown *et al.*, 1999). Grassi e colaboradores (2000) observaram que a presença de partículas inorgânicas recobertas com matéria orgânica pode alterar a distribuição do cobre em meio aquoso.

A distribuição de uma espécie metálica entre o material particulado em suspensão e a fração dissolvida, ou seja, sua partição exerce um papel importante no controle da especiação de metais em águas naturais. De acordo com Lu e Allen (2001), o conhecimento das condições que controlam a partição permite avaliar até que ponto uma espécie metálica pode ser transferida para a fase biodisponível. Desta maneira, a compreensão deste fenômeno também é importante para o estabelecimento de padrões de qualidade de água para corpos aquáticos receptores.

Segundo Sigg (1998), os principais processos que controlam a partição de metais entre a fase sólida e aquosa são a precipitação, a troca iônica e a adsorção. A influência de cada processo sobre a partição depende do tipo de metal, das características do material em suspensão e da composição da coluna de água. Gundersen e Steinnes (2003) avaliaram a distribuição de cobre, cádmio, chumbo e alumínio entre as frações particulada, coloidal e dissolvida e verificaram que, no caso do alumínio, a partição foi governada por processos de co-precipitação sendo que para os demais metais, fatores como pH e matéria orgânica controlaram a distribuição dos mesmos entre as frações particulada e dissolvida. Lu e Allen (2001) observaram que o teor de matéria orgânica, tanto na fração dissolvida quanto no material particulado governaram a partição do cobre em águas superficiais. Os autores também relataram que o pH e a concentração de sólidos em suspensão também são aspectos importantes no controle da



partição. Por outro lado, são descritos na literatura diferentes graus de associação de uma mesma espécie metálica com sólidos em suspensão de diferentes procedências ou características (Windom *et al.*, 1991; Grassi *et al.*, 2000).

Muitos trabalhos têm relatado o emprego de sólidos modelo para o estudo dos processos de adsorção e dessorção de metais no material particulado. Como adsorvente, a literatura descreve o uso de solos (Lee *et al.*, 1996; Sodré *et al.*, 2001), óxidos metálicos (Huang *et al.*, 1988, Grassi *et al.*, 2000), assim como sólidos de diferentes natureza (Shi e Sengupta, 1991). Entretanto, nenhum destes sistemas teria condições de representar fielmente o material particulado natural presente na coluna de  gua. Embora estas partículas possam ser provenientes de fontes similares, tais como erosão de solos, ressuspensão de sedimentos, deposição atmosférica de aerossóis, entre outros, todas podem diferir quando são considerados parâmetros físicos como densidade, área superficial e teor de matéria orgânica. Tais aspectos podem alterar seus comportamentos quanto aos fenômenos de adsorção e/ou dessorção. Contudo, os conhecimentos gerados a partir de estudos empregando sólidos de diferentes procedências são importantes para a compreensão do comportamento de metais nos mais diferentes compartimentos ambientais. O material particulado suspenso não tem sido diretamente empregado em estudos de adsorção em função da dificuldade na concentração do mesmo (Whitehouse *et al.*, 1990). Normalmente, a concentração de sólidos suspensos em águas superficiais situa-se na faixa entre 5 e 50 mg L<sup>-1</sup>. Nestes casos, um volume excessivo de amostra teria que ser processado para que a suspensão resultante pudesse conter uma concentração de sólidos suficientemente elevada para a realização de experimentos de adsorção (Sigg, 1998).

Assim como no material particulado em suspensão, na fração dissolvida espécies metálicas podem interagir com uma variedade de ligantes naturais e antropog nicos e formar complexos estáveis e não disponíveis   biota. Nesta fração, os principais constituintes responsáveis pela complexação de metais são formados por estruturas coloidais que são contabilizadas como dissolvidas.

Em ambientes aquáticos naturais, grande parte dos componentes da fração coloidal é formada por substâncias húmicas aquáticas (SHA). Estas substâncias são os principais constituintes da matéria orgânica dissolvida e, igualmente, os principais agentes responsáveis pela complexação de metais na fase solúvel (Cabaniss e Shuman, 1988; Zsolnay, 2003).

Segundo Town e Filella (2000) existem dois tipos de abordagem que são empregadas para se estudar a complexação de metais pela matéria orgânica dissolvida. A primeira abordagem baseia-se em procedimentos prévios de extração de frações orgânicas e obtenção de parâmetros de complexação para cada fração. Diversas metodologias têm sido aplicadas para a o fracionamento matéria orgânica dissolvida em águas naturais. Substâncias húmicas aquáticas são comumente isoladas em ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina, de acordo com as solubilidades destas espécies em diferentes concentrações hidrogeniônicas. O procedimento utilizado para a separação fracionada destas substâncias é padronizado pela IHSS e envolve o emprego de colunas de separação do tipo DAX-8 para purificação do material fracionado (Thurman e Malcom, 1981). Apesar de existir uma metodologia padronizada para obtenção destas diferentes frações húmicas, muitas outras vêm sendo desenvolvidas e validadas para este fim (Ma *et al.*, 2001; Imai *et al.*, 2001; Müller e Frimmel, 2002).

O fracionamento das substâncias húmicas aquáticas também pode ser caracterizado pela diferenciação de frações com base no tamanho molecular, ou massa molar dos compostos por meio de técnicas cromatográficas de exclusão (Lin *et al.*, 1995; Perminova *et al.*, 2003). Outros métodos empregados envolvem a separação por diálise (Gundersen *et al.*, 2003), a centrifugação, a microfiltração (Schäfer *et al.*, 2000) e a ultrafiltração (Rocha *et al.*, 2000; Grzybowski, 2000; Aoustin *et al.*, 2001).

A segunda abordagem empregada no estudo da complexação de metais pela matéria orgânica dissolvida baseia-se na obtenção de parâmetros de complexação para a amostra bruta, ou seja, sem ser submetida a procedimentos de extração. Devido à heterogeneidade dos sistemas envolvidos, a interpretação

dos dados é feita de maneira mais simples, sendo que são obtidos parâmetros de complexação para apenas um ou dois sítios de complexação.

Não existe uma definição clara com respeito à composição química e estrutural da matéria orgânica dissolvida. Devido a sua composição heterogênea, podem apresentar variações com relação à massa molar, grupos funcionais, presença e tipos de radicais livres tornando difícil a caracterização precisa de sua estrutura química (Han e Thompson, 1999). Os grupos funcionais presentes nestes compostos caracterizam suas reatividades. Os principais grupos funcionais são carboxílicos (-COOH), fenólicos (Ar-OH), aminídicos (-NH<sub>2</sub>), imidazólicos (Ar-NH), sulfidrílicos (-SH), quinônicos (Ar=O), entre outros (Perdue *et al.*, 1980). As formas de carbono associadas a estas substâncias apresentam variações de região para região devido à natureza heterogênea do material de origem (Unsal e Ok, 2001). Os constituintes elementares mais importantes destas substâncias são o carbono (40-60 %), oxigênio (30-40 %) e hidrogênio (4-6 %) (Stumm, 1992).

Uma característica importante da matéria orgânica dissolvida é a sua capacidade de formar complexos estáveis com íons metálicos. Diversos autores têm demonstrado que a complexação do cobre pela matéria orgânica em águas naturais é influenciada pela concentração e pelos tipos de grupos funcionais presentes na matéria orgânica (Powell e Fenton, 1996; Masini *et al.*, 1998; Lu e Allen, 2002), bem como, pelo tamanho das moléculas que compõe o material (Lin *et al.*, 1995; Sargentini Jr *et al.*, 2001).

O processo de complexação de metais pode ser representado da seguinte maneira, omitindo-se as cargas:



onde M, L e ML representam as espécies do metal livre, ligante livre e complexo, respectivamente. A constante de estabilidade do complexo formado é dada como:

$$K_{ML} = \frac{[ML]}{[M][L]} \quad (2)$$

Os termos  $[M]$ ,  $[L]$  e  $[ML]$  referem-se às concentrações do metal livre, ligante livre e complexo, respectivamente. Segundo Neubecker e Allen (1983) a concentração total do metal em um sistema aquático pode ser dada como:

$$c_M = [M] + \sum [ML]_{\text{inorg}} + \sum [ML]_{\text{org}} \quad (3)$$

onde  $[ML]_{\text{inorg}}$  refere-se à concentração de metalo-complexos inorgânicos e  $[ML]_{\text{org}}$  à concentração de metalo-complexos orgânicos. Analogamente, a concentração total do ligante é representada por:

$$c_L = [L] + \sum [ML]_{\text{inorg}} + \sum [ML]_{\text{org}} \quad (4)$$

Desta maneira, observa-se que somente uma fração do metal e do ligante encontra-se na forma livre e, portanto, disponível para posteriores interações com outras espécies. A capacidade de complexação é definida como a concentração na qual um íon metálico pode ser adicionado a um meio aquático sem que sua forma iônica seja aquela predominante (Florence *et al.*, 1983).

Modelos de especiação de metais com uma grande variedade de ligantes inorgânicos, a partir de cálculos de equilíbrio, já são conhecidos e estão bem estabelecidos (Stumm e Morgan, 1996, Allen e Hansen, 1996). Alguns autores consideram que complexos inorgânicos são biodisponíveis ou apresentam toxicidade com relação a organismos aquáticos (Mylon *et al.*, 2003). Por outro lado, metais complexados por ligantes orgânicos são considerados não-biodisponíveis. Entretanto, pouco se sabe sobre o processo de complexação de metais com a matéria orgânica dissolvida, a qual exerce um papel fundamental na especiação de metais. Apesar dos níveis baixos de concentração em algumas águas naturais, os ligantes de natureza orgânica possuem um poder elevado de complexação.

Para o estudo da complexação da matéria orgânica dissolvida frente a metais é preciso utilizar modelos matemáticos para a obtenção de parâmetros de complexação. A capacidade de complexação e a constante de estabilidade

condicional são calculadas a partir da interpretação dos dados obtidos na titulação direta da amostra com o metal e tratamento destes dados empregando-se modelos matemáticos. Os modelos mais empregados são o de Scatchard (Scatchard, 1949) e o modelo desenvolvido, independentemente, por van den Berg (Van den Berg e Kramer, 1979) e Ruzic (Ruzic, 1982). O modelo de van den Berg-Ruzic é dado por:

$$\frac{[M]}{[ML]} = \frac{1}{K_{ML}[L]} + \frac{1}{[L]}[M] \quad (5)$$

Para obtenção de  $[L]$  e  $K_{ML}$  lança-se em gráfico  $[M]/[ML]$  em função de  $[M]$ . Para complexos com um sítio de complexação obtêm-se uma linha reta, onde a capacidade de complexação é obtida pelo inverso da inclinação e a constante de estabilidade condicional por meio da razão entre o coeficiente angular e o valor encontrado na interseção da reta no eixo das ordenadas. A capacidade do sistema em complexar o metal também pode ser resultado da formação de uma série de complexos 1:1 com ligantes e constantes de estabilidade diferentes. Este novo quadro fornece quatro componentes experimentalmente disponíveis, dois coeficientes angulares e dois coeficientes lineares, dos quais quatro parâmetros desconhecidos ( $L_1$ ,  $L_2$ ,  $K_1$  e  $K_2$ ) podem ser obtidos (Ruzic, 1996). Desta forma, segundo van den Berg-Ruzic, a presença de mais de um ligante ou sítio de complexação provoca o aparecimento de uma curva convexa resultante do somatório de várias funções lineares. Onde  $[L_1]$  é dada pelo inverso do coeficiente linear da reta 1,  $[L_2]$  pelo inverso do coeficiente linear da reta 2,  $K_{ML1}$  e  $K_{ML2}$  pela razão do coeficiente angular das retas 1 e 2 divididos pela interseção com o eixo das ordenadas de cada reta.

O modelo de Scatchard é dado por:

$$\frac{[ML]}{[M]} = K_{ML}[L] - K_{ML}[ML] \quad (6)$$

Neste modelo, o gráfico é representado pela relação entre  $[ML]/[M]$  e  $[ML]$ . Para complexos com estequiometria 1:1 obtêm-se uma função linear sendo que o módulo do coeficiente angular fornece o valor de  $K_{ML}$ , e a interseção com o eixo das ordenadas fornece o produto  $K_{ML}[L]$ . Para o modelo de Scatchard, o ajuste dos dados fornece uma curva côncava e são obtidos parâmetros para dois sítios de complexação. A curva obtida pode ser dividida em dois segmentos de reta onde,  $K_{ML1}$  e  $K_{ML2}$  são obtidos pelo módulo do coeficiente angular das retas 1 e 2, respectivamente. A interseção da reta 1 com o eixo das ordenadas fornece  $[L_1]K_{ML1} + [L_2]K_{ML2}$  e a interseção da reta 2 com o eixo das abscissas fornece  $[L_1] + [L_2]$ .

Para a compreensão da interação de metais com a matéria orgânica dissolvida são necessários métodos analíticos para se elucidar e quantificar a extensão de tais interações. Tais métodos se traduzem através da determinação das constantes de estabilidade e da capacidade de complexação entre o metal e a matéria orgânica dissolvida. A Tabela 1 apresenta algumas técnicas que podem ser utilizadas para determinação da capacidade de complexação do cobre em amostras de águas naturais. O cobre tem sido o íon mais utilizado em muitos estudos em razão da formação de complexos estáveis com vários tipos de ligantes de ocorrência natural.

Tabela 1. Algumas técnicas empregadas na determinação da capacidade de complexação do cobre frente a substâncias húmicas aquáticas.

Técnica	Intervalo de concentração Log (mol L <sup>-1</sup> )
Voltametria	-8 a -9
Ultrafiltração/EAA	-7 a -8
Fluorescência	-6 a -7
Polarografia	-6 a -7
Potenciometria	-5 a -6

Adaptado de Rocha e Rosa (2003)

Dentre os métodos eletroquímicos citados na Tabela 1, a potenciometria permite a obtenção de informações a respeito da concentração e quantidade de sítios de complexação da matéria orgânica utilizando-se eletrodos íon-seletivos

sensíveis à espécie de interesse. Esta técnica baseia-se na medição da diferença de potencial entre os eletrodos de referência e indicador em uma célula eletroquímica contendo o analito. A relação entre o potencial do eletrodo de referência e do eletrodo que responde seletivamente a determinado íon é uma função do logaritmo da atividade do íon em solução. Esta relação é representada pela equação de Nernst. A potenciometria é muito utilizada para determinação de metais em uma extensa faixa de concentração. Entretanto, quando empregada em amostras reais contendo concentrações-traço do elemento a ser determinado esta técnica pode apresentar limitações, visto que uma pequena variação no logaritmo da concentração observada pode provocar erros elevados na concentração total.

A potenciometria pode ser complementada pelas técnicas voltamétricas que apresentam um excelente limite de detecção e ótima correlação com a biodisponibilidade do metal (Xue e Sunda, 1997; Rozan *et al.*, 1999a; Mylon *et al.*, 2003). Na voltametria, a polarização do eletrodo de trabalho atua como fator controlador ao induzir determinadas espécies químicas a se oxidarem ou reduzirem.

A voltametria compreende uma variedade de métodos eletroanalíticos nos quais as informações sobre a espécie de interesse são obtidas pela medida da corrente em função do potencial. A corrente gerada no eletrodo é monitorada em função de uma varredura sistemática de potencial gerando um voltamograma. Neste caso, a magnitude da corrente é proporcional à concentração do analito (Monk, 2001). Além disso, esta técnica permite a detecção de metais em varias faixas de concentração que podem abranger desde  $\text{mmol L}^{-1}$  até  $\text{pmol L}^{-1}$ . Para a determinação de metais em concentrações-traço, algumas técnicas voltamétricas, denominadas de redissolução, podem ser precedidas de uma etapa de pré-concentração eletroquímica do analito (eletrodeposição).

Duas das principais técnicas voltamétricas empregadas para a determinação da especiação de metais em águas naturais são a Voltametria de Redissolução Anódica (VRA) e a Voltametria de Redissolução Catódica (VRC).

Na VRA, o eletrodo, normalmente uma gota de mercúrio, se comporta como um cátodo durante a eletrodeposição e como um ânodo durante o processo de

redissolução, no qual a espécie de interesse é oxidada à sua forma original. De uma maneira geral, consiste em aplicar um potencial de deposição mais catódico que o potencial de meia-onda dos metais a serem determinados; seguido de uma varredura de potencial no sentido anódico para oxidar o metal reduzido de volta para a solução. A VRA pode ser empregada apenas na determinação de metais que apresentem uma solubilidade apreciável em mercúrio.

Na VRC, o eletrodo se comporta como ânodo durante a etapa de eletrodeposição e como um cátodo durante a redissolução. Em estudos de especiação de metais por VRC são empregados diversos tipos de substratos para mimetizar o comportamento de organismos vivos presentes no meio ambiente. Tais substâncias são depositadas no eletrodo de mercúrio durante a etapa de eletrodeposição e são responsáveis pela complexação de metais na superfície da gota. Na etapa de redissolução, as espécies metálicas são desorvidas da gota e determinadas voltametricamente. A estabilidade das superfícies ativas nos complexos formados pelo substrato determina a faixa de detecção da técnica. Variações na concentração do ligante adicionado ou a seleção de um ligante que forma complexos mais fracos ou mais estáveis promovem alterações na faixa de detecção. A habilidade demonstrada para variar a faixa de detecção sob ordens de magnitude diferentes consiste numa característica importante da VRC. O cobre, por exemplo, pode ser determinado por VRC, em águas naturais, usando como ligante o catecol, o 8-quinolinol (oxina), a tropolona e a salicilaldoxima (Campos e van den Berg, 1994).

Os métodos eletroquímicos citados na Tabela 1 podem ser empregados tanto para obtenção de parâmetros de complexação, quanto para a determinação da especiação de metais em águas naturais. Ambas as técnicas voltamétricas de redissolução podem fornecer resultados representativos e confiáveis, pois apresentam excelentes limites de detecção e elevada sensibilidade analítica (Bruland *et al.*, 2000).

Uma alternativa para a determinação da especiação de metais utilizando VRA foi desenvolvida por Scarano e colaboradores (1992). Este método baseia-se no princípio de troca de matriz onde ocorre a deposição da espécie de interesse



no eletrodo de trabalho seguida da redissolução em uma matriz contendo etilenodiamina (EN). Neste caso a EN também atua como um ligante de competição que interage com as espécies metálicas de interesse e é capaz de formar um complexo de propriedades eletroativas com o metal (Müller, 1999; Müller *et al.*, 2001). O complexo formado sofre redução no eletrodo de trabalho quando o potencial de eletrodeposição for suficientemente catódico. Ao se adicionar EN no fim do período de eletrodeposição a reação de redissolução é alterada, como pode ser observado na equação 7:



As propriedades eletroquímicas do complexo possibilitam ainda uma maior sensibilidade para a determinação do cobre. O comportamento do complexo CuEN durante a determinação do metal é mostrado na Figura 2. Estes voltamogramas foram obtidos empregando-se eletrodo de filme de mercúrio (Scarano *et al.*, 1991).

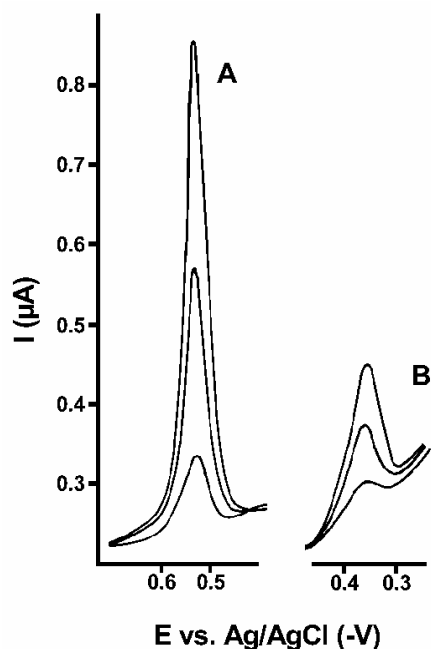


Figura 2. Voltamogramas obtidos durante a determinação de cobre por VRA. (A) Água marinha na presença EN 5 mmol L<sup>-1</sup> (pH~8) e (B) amostra acidificada até pH 2 (Scarano *et al.*, 1991).

Observa-se que a presença do complexo CuEN, durante a determinação voltamétrica do cobre (Figura 2A), promove maior sensibilidade à medida analítica. Esta característica é importante para a determinação de metais em ambientes aquáticos naturais, pois as concentrações destas espécies nessas matrizes encontram-se na faixa de traços.

### 1.3. Caracterização de amostras de águas naturais

Inúmeras estratégias têm sido empregadas na caracterização de amostras de águas naturais. Da mesma maneira, diferentes informações podem ser obtidas a partir do emprego destas estratégias. A Figura 3 apresenta algumas das principais técnicas empregadas para a caracterização de amostras de águas naturais.

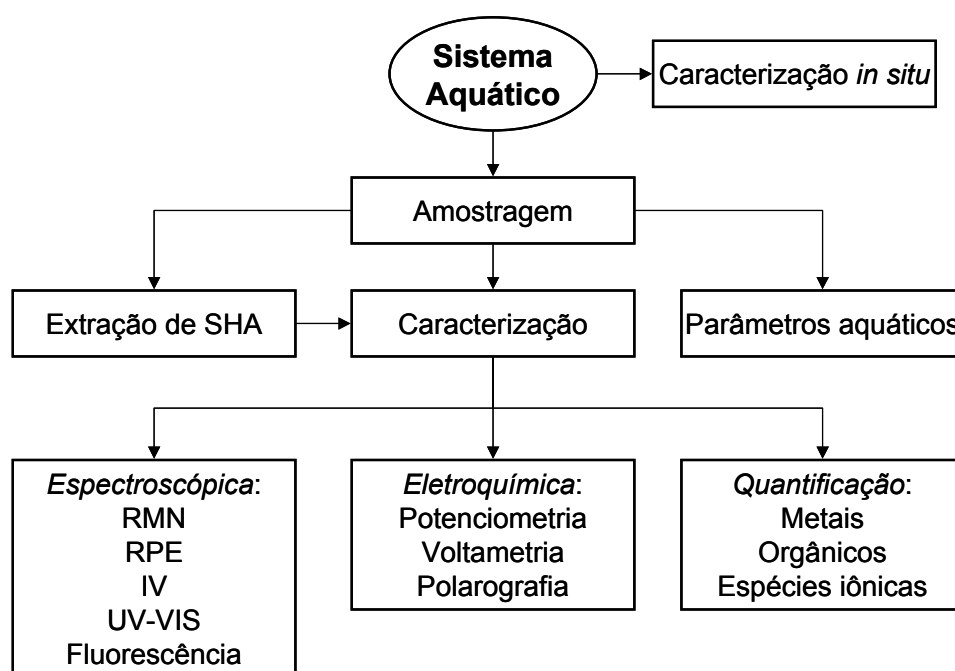


Figura 3. Alguns procedimentos utilizados para a caracterização de amostras de águas naturais Adaptado de Burba *et al.*, 1998.

A escolha do procedimento a ser empregado para a caracterização de uma amostra natural depende do tipo de informação a ser obtida, bem como dos recursos logísticos e operacionais disponíveis. Determinações *in situ* envolvem, geralmente, a utilização de aparelhos portáteis equipados com eletrodos específicos para a determinação de alguns parâmetros aquáticos, tais como pH, condutividade, potencial redox, entre outros. Entretanto, tem sido relatado o desenvolvimento de novas tecnologias para a obtenção de resultados mais elaborados como, por exemplo, referentes à especiação química de metais, (Zhang e Davison, 2000).

Muitas técnicas envolvidas na caracterização de águas naturais ou de seus componentes são desenvolvidas em laboratório, após a obtenção de uma amostra representativa do sistema aquático em estudo. A determinação de parâmetros aquáticos, tais como demanda química ou bioquímica de oxigênio, alcalinidade, carbono orgânico dissolvido e particulado, sólidos suspensos totais, entre outros, é, geralmente, realizada em laboratório.

Caracterizações espectroscópicas, eletroquímicas ou aquelas envolvidas com a quantificação do conteúdo de metais e compostos orgânicos podem ser executadas na amostra *in natura* ou a partir do isolamento e purificação de algum de seus constituintes. Neste caso, os constituintes aquáticos naturais mais estudados são as substâncias húmicas aquáticas (Frimmel, 1998; Ma *et al.*, 2001). Muitos autores descrevem métodos de caracterização destas substâncias empregando técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ , ressonância paramagnética eletrônica e infravermelho com transformada de Fourier (Repeta *et al.*, 2002; Rocha e Rosa, 2003). Estas técnicas podem fornecer informações importantes quanto às características de grupos funcionais orgânicos, estrutura química, aromaticidade, entre outros parâmetros. Entretanto, devido à baixa concentração de carbono orgânico dissolvido em sistemas de água doce, cerca de alguns miligramas por litro (Stumm e Morgan, 1996), o isolamento de substâncias húmicas em quantidades apreciáveis exige que grandes volumes de amostras sejam processados em equipamentos específicos para este fim (Rocha

e Rosa, 2003). Alguns autores relatam a necessidade de processamento de até 150 L de amostra (Peuravuori e Pihlaja, 1998a; Peuravuori e Pihlaja, 1998b).

Outras técnicas espectroscópicas utilizadas em experimentos de caracterização de águas naturais baseiam-se em fenômenos de absorção e emissão de radiações eletromagnéticas pela matéria orgânica dissolvida. Estas técnicas apresentam elevada sensibilidade e, por este motivo, podem fornecer informações importantes com respeito à constituição orgânica de águas naturais sem que exista a necessidade de pré-concentração do material orgânico presente na fração dissolvida. Dentre as principais técnicas destacam-se a espectrofotometria de absorção molecular nas regiões do ultravioleta e do visível (UV-VIS) e a espectrofotometria de fluorescência.

Em experimentos de absorção molecular na região do UV, Peuravuori e Pihlaja (1997) sugeriram que a aromaticidade de substâncias húmicas aquáticas pode ser estimada por meio da razão entre valores absorbância centrados em 250 e 365 nm. Dahlén e colaboradores (1999) relataram a possibilidade de estimar a massa molar de ácidos fúlvicos empregando UV-VIS e aplicando métodos de calibração multivariada a partir de dados espectrais. A avaliação de amostras de águas naturais por UV-VIS desempenha um papel importante para a elucidação de algumas propriedades químicas da matéria orgânica natural. Entretanto, a técnica fotométrica mais utilizada para este fim é a espectroscopia de fluorescência molecular. Esta técnica pode fornecer inúmeras informações qualitativas e quantitativas relativas à estrutura molecular de substâncias presentes na matéria orgânica dissolvida (Chen *et al.*, 2002), além de contribuir para a elucidação da interação entre estas substâncias com diferentes espécies metálicas (Rocha e Rosa, 2003; Cao *et al.*, 2004).

#### **1.3.1. Caracterização espectroscópica por fluorescência molecular**

A fluorescência é um fenômeno luminescente no qual as espécies atômicas ou moleculares do analito são excitadas por radiações eletromagnéticas nas regiões do UV ou do visível e, quando retornam ao estado fundamental, fornecem um espectro de radiações que são emitidas em comprimentos de onda

superiores ao fixado para a excitação. A medida da intensidade de fluorescência permite a determinação quantitativa de uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos em níveis traço, com limites de detecção cerca de três ordens de magnitude menores que aqueles encontrados em fenômenos de absorção.

Compostos orgânicos contendo grupos funcionais aromáticos fornecem valores superiores de intensidade de fluorescência em comparação aos demais tipos de estruturas químicas. Isto ocorre devido à maior possibilidade de ocorrência de transições do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  de baixa energia (Valeur, 2001). Para a maioria dos compostos fluorescentes, a radiação emitida pode ser produzida tanto por transições  $n \rightarrow \pi^*$  quanto por  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

Compostos contendo estruturas alifáticas e alicíclicas ou estruturas altamente conjugadas também exibem fluorescência, porém com intensidades inferiores em comparação aos sistemas aromáticos (Valeur, 2001). Além disso, a intensidade de fluorescência mostra-se superior em sistemas aromáticos que apresentam um maior grau de condensação, ou seja, quanto maior o número de anéis aromáticos, maior será também a eficiência do processo de fluorescência.

Inúmeros estudos demonstram que a elucidação da estrutura química das substâncias húmicas aquáticas pode ser investigada por meio de fenômenos de fluorescência. (Nieke *et al.*, 1997; Ismaili *et al.*, 1998; Parlanti *et al.*, 2000). Diante deste fato, muitas considerações e algumas hipóteses fundamentais têm sido estabelecidas a partir de diversos estudos envolvendo a caracterização da matéria orgânica dissolvida natural. Sabe-se, por exemplo, que a intensidade de fluorescência é inversamente proporcional ao tamanho dos agregados orgânicos. Em sistemas aromáticos, a presença de grupos receptores de elétrons promove uma diminuição da emissão de fluorescência enquanto que grupos doadores de elétrons provocam um aumento da intensidade emitida. Substituintes contendo carbonilas, assim como grupos hidroxílicos, alcoxílicos e aminos tendem a provocar um deslocamento da fluorescência para maiores comprimentos de onda (Peuravouri *et al.*, 2002).

O equipamento mais comumente empregado para realização de experimentos envolvendo fluorescência é denominado espectrofotômetro de

fluorescência ou espectrofluorímetro. Consiste, basicamente, de uma fonte de excitação que emite radiações de modo contínuo, uma cela de quartzo multifacetada que comporta a amostra no estado líquido, filtros ou monocromadores localizados antes e após o espaço reservado para comportar a amostra, tubos fotomultiplicadores que recebem a radiação emergente e a radiação de referência e, finalmente, um detector apropriado. A radiação emergente é colhida em ângulo reto em relação à radiação incidente, diferentemente do que ocorre nos espectrofotômetros de absorção, onde o ângulo é o dobro disto. Vários tipos totalmente distintos de espectros podem ser obtidos através deste equipamento. As modalidades de fluorescência mais utilizadas em estudos ambientais são a emissão, a matriz excitação-emissão (MEE) e a sincronizada.

#### *Modalidade emissão*

Para se obter um espectro de emissão de fluorescência costuma-se definir um comprimento de onda específico para excitação dos componentes da amostra. A radiação incidente é estabelecida como aquela na qual a amostra absorve com maior intensidade em seu espectro de absorção. Mantendo-se fixo este comprimento de onda de excitação, são registrados os comprimentos de onda e as intensidades das emissões provenientes da relaxação dos componentes da amostra.

Esta modalidade de fluorescência é a mais empregada em estudos envolvendo a caracterização da matéria orgânica em águas naturais (Frimmel, 1998; Chen *et al.*, 2002). A Figura 4 mostra um espectro de emissão de fluorescência típico para uma solução de ácido húmico.

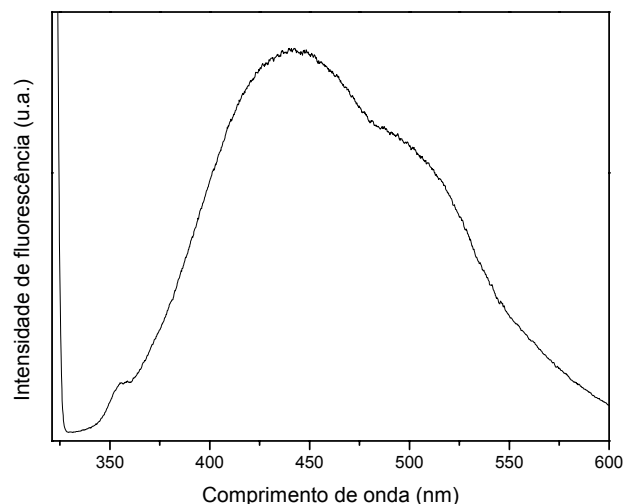


Figura 4. Espectro de emissão de fluorescência para uma solução de ácido húmico comercial.  $\lambda_{exc}$  = 315 nm.

Na Figura 4 observa-se que, quando uma amostra de ácido húmico é excitada, o espectro de emissão resultante é caracterizado pelo aparecimento de uma banda que ocupa uma extensa região a partir da radiação incidente. Esta região é denominada “deslocamento de Stoke”. Observa-se também que intensidade máxima de fluorescência, em unidades arbitrárias, aparece centrada em torno de 440 nm. A pequena banda localizada em 355 nm é atribuída ao espalhamento Raman e a intensidade de fluorescência elevada que ultrapassa os limites do eixo das ordenadas no início da faixa espectral é decorrente do efeito de ressonância resultante da radiação incidente. No espectro mostrado na Figura 4 foi empregado um comprimento de onda de excitação de 315 nm para o acompanhamento da degradação de soluções de ácido húmico por processos oxidativos avançados (Campos *et al.*, 2001). Outras radiações nas regiões do UV ou visível também têm sido utilizadas para o estudo do comportamento de substâncias húmicas em águas naturais (Nieke *et al.*, 1997; Ismaili *et al.*, 1998).

Westerhoff e Anning (2000) avaliaram as características espectroscópicas de substâncias húmicas aquáticas de referência (IHSS) e de amostras de águas naturais coletadas em diversos rios do Estado do Arizona, nos EUA. Com base em espectros de emissão de fluorescência os autores puderam verificar que amostras

mais humificadas mostravam bandas de intensidade de fluorescência máxima em comprimentos de onda de emissão mais elevados.

#### *Modalidade matriz excitação-emissão (MEE)*

Esta modalidade baseia-se na obtenção de um espectro tridimensional a partir de vários espectros individuais de emissão. Esta técnica tem sido largamente utilizada, pois permite uma varredura mais ampla empregando vários comprimentos de onda de excitação. Pode-se obter um espectro MEE a partir do processamento dos dados espectrais por meio de um programa gráfico, embora alguns equipamentos mais modernos já incluam esta modalidade. A Figura 5 mostra um espectro MEE obtido para uma solução de ácido húmico comercial.

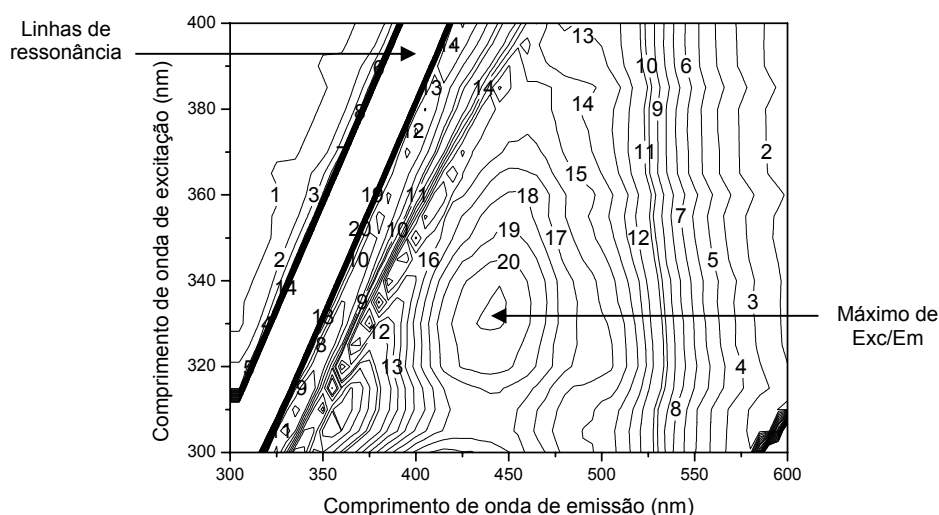


Figura 5. Espectro de excitação-emissão obtido para uma solução de ácido húmico comercial.

O espectro mostrado na Figura 5 foi obtido por meio da excitação da amostra em diversos comprimentos de onda que variaram entre 300 e 400 nm, sendo que a emissão resultante para cada radiação incidente foi monitorada na faixa espectral entre 300 e 600 nm. Os valores de intensidade de emissão de fluorescência aparecem sob a forma de curvas de nível. Neste caso, observa-se que o valor de emissão máximo foi obtido com a radiação incidente fixada,



exatamente, em 330 nm. Pode-se observar ainda, no canto superior esquerdo da figura, uma faixa extensa de emissão proveniente da ressonância das radiações incidentes.

Devido à possibilidade de se trabalhar com uma faixa espectral extensa, tanto de emissão quanto de excitação, esta modalidade de fluorescência tem sido uma das mais utilizadas para a caracterização de componentes aquáticos naturais (Luster *et al.*, 1996; Baker, 2002).

Coble (1996) avaliou as características da matéria orgânica dissolvida em águas marinhas e foi capaz de identificar até cinco picos distintos referentes a componentes orgânicos tais como substâncias húmicas comerciais ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 260/380-460$  nm e  $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 420/480$  nm), substâncias húmicas marinhas ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 312/380-420$  nm) e proteínas do tipo tirosina ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 275/310$  nm) e triptofano ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 275/340$  nm). O pico referente à presença de compostos protéicos do tipo triptofano também foi detectado em outros estudos (Parlanti *et al.*, 2002; Baker, 2002). Parlanti e colaboradores (2000) evidenciaram que o aparecimento deste pico pode ser resultado da presença de compostos orgânicos que são liberados a partir do metabolismo de algas e organismos marinhos em regiões afetadas pela atividade antrópica. Baker (2002) também utilizou o pico referente a compostos como o triptofano para diferenciar águas naturais em regiões próximas a indústrias de papel e celulose.

Muitos estudos também têm empregado a espectrometria MEE para diferenciar tipos de substâncias húmicas em águas naturais. De maneira geral, a presença de picos em  $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 310-330/440$  têm sido, classicamente, atribuída a substâncias húmicas aquáticas (Parlanti *et al.*, 2002). Monier e colaboradores (1999) avaliaram a característica de substâncias húmicas do Rio Amazonas e puderam diferenciar picos referentes ao ácido húmico ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 330/445$ ) e ao ácido fúlvico ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 260/445$ ). Entretanto, devido à heterogeneidade destas substâncias, cuja estrutura pode variar dependendo da região geográfica, ainda não existe uma definição clara para o aparecimento de picos que possam ser atribuídos a elas.

### *Modalidade sincronizada*

A fluorescência sincronizada tem sido bastante empregada devido à possibilidade de se obter informações adicionais com relação à constituição estrutural de compostos orgânicos em comparação às modalidades convencionais de emissão e excitação. (Senesi, 1990a; Pullin e Cabaniss, 1995; Chen *et al.*, 2003).

A técnica sincronizada foi sugerida pela primeira vez por Lloyd (1971a). Neste tipo de modalidade de fluorescência, os comprimentos de onda de excitação e de emissão são monitorados de forma sincronizada com um intervalo constante entre ambos, onde  $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{exc}$ . O valor de  $\Delta\lambda$  foi primeiramente definido pela diferença entre os comprimentos de onda de excitação e emissão máximos obtidos em uma varredura empregando a modalidade MEE. Empregando este valor de  $\Delta\lambda$  em amostras contendo uma grande variedade de compostos orgânicos, como no caso das substâncias húmicas, as chances de ocorrência de sobreposição de picos aumentam, provocando distorções no sinal de fluorescência. Entretanto, a resolução de um espectro de fluorescência sincronizada pode ser comprimida ou expandida simplesmente aumentando ou diminuindo o valor de  $\Delta\lambda$ , respectivamente (Vo-Dinh, 1978). Sabe-se que a diminuição do intervalo entre os comprimentos de onda de excitação e emissão reduz drasticamente a sobreposição de sinais.

Lloyd (1971b) sugeriu um valor de  $\Delta\lambda$  entre 20 e 30 nm para detecção de compostos aromáticos condensados. Porém, foi provado que um intervalo de 18 nm promove o aumento da resolução do sinal de fluorescência sincronizada para a detecção de substâncias húmicas em diferentes soluções (Peuravuori *et al.*, 2002).

A Figura 6 mostra um espectro de fluorescência sincronizada obtido para uma solução de ácido húmico comercial.

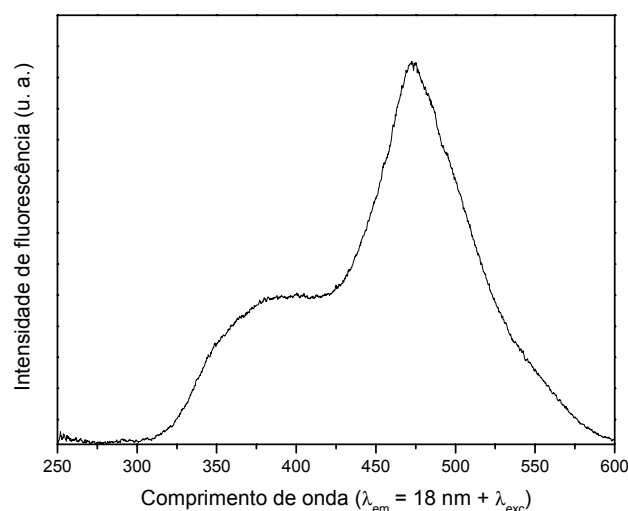


Figura 6. Espectro de fluorescência sincronizada para solução de ácido húmico comercial. ( $\Delta\lambda = 18$  nm)

Pode ser observado na Figura 6 que o espectro de fluorescência empregando a modalidade sincronizada apresenta um comportamento distinto em comparação ao espectro de emissão obtido para uma solução de ácido húmico comercial (Figura 4). No espectro mostrado na Figura 6, a intensidade máxima de fluorescência está localizado em 475 nm. A presença de picos nesta região espectral tem sido atribuída a substituintes doadores de elétrons presentes em substâncias húmicas extraídas de solos e águas naturais (Miano *et al.*, 1988; Senesi, 1990a). Além disso, bandas localizadas na região entre 440 e 480 nm têm sido atribuídas à presença de compostos orgânicos humificados de elevada massa molar, ou ainda, que apresentam elevado grau de condensação (Chen *et al.*, 2003).

Recentemente, Peuravuori e colaboradores (2002) avaliaram o comportamento de diferentes frações húmicas aquáticas empregando fluorescência sincronizada e evidenciaram a presença de diferentes estruturas orgânicas em várias regiões espectrais. Estas regiões são mostradas na Figura 7.

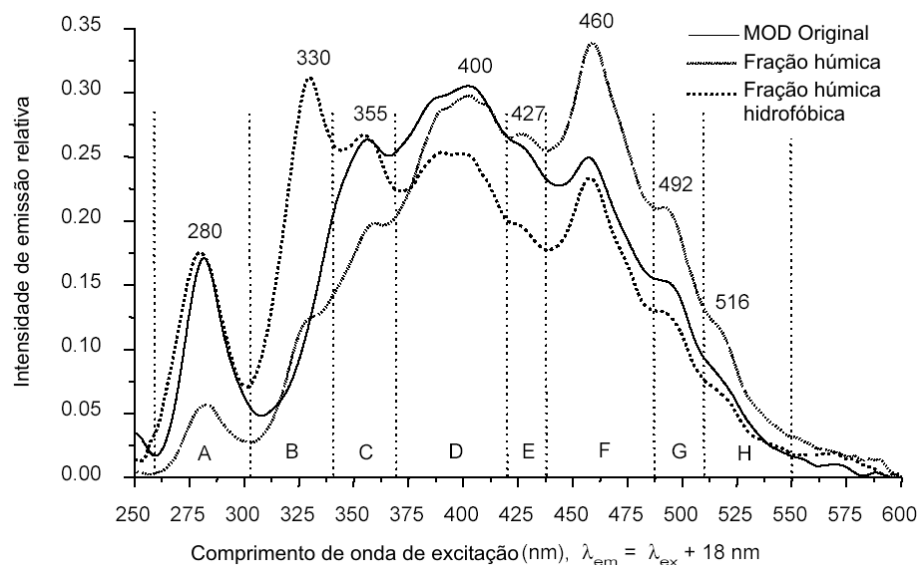


Figura 7. Espectros de fluorescência sincronizada obtidos para matéria orgânica dissolvida natural e para diferentes frações húmicas. ( $\Delta\lambda = 18 \text{ nm}$ ). As linhas tracejadas verticais delimitam as diferentes regiões dos espectros (Peuravuori *et al.*, 2002).

A Figura 7 mostra espectros de fluorescência sincronizada obtidos para matéria orgânica dissolvida natural e para diferentes frações húmicas extraídas com colunas do tipo DAX-8 empregando-se diferentes eluentes. O espectro evidencia diferentes regiões espectrais delimitadas por linhas verticais, denominadas A = 260-302 nm; B = 302-340 nm; C = 340-370 nm; D = 370-420 nm; E = 420-438 nm; F = 438-487 nm; G = 487-510 nm; H = 510-550 nm (Peuravuori *et al.*, 2002).

As intensidades de fluorescência na região A, localizadas em 298 nm, são atribuídas à presença de aminoácidos aromáticos e alguns outros ácidos voláteis que apresentam uma estrutura alifática altamente conjugada. A presença deste tipo de estrutura também foi verificada por Lombardi e Jardim (1999).

A faixa espectral B pode ser atribuída à presença de naftaleno e seus derivados (Kister e Pieri, 1996).

As estruturas que contribuem para a fluorescência na faixa espectral C, de 355 a 373 nm, são basicamente formadas por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com três ou quatro anéis aromáticos conjugados.

A região D, cuja faixa espectral é a mais extensa, caracteriza-se pela presença de estruturas policíclicas aromáticas formadas por cerca de cinco anéis conjugados.

A última secção identificada por Peuravuori e colaboradores (2002) apresenta picos de máxima intensidade localizadas entre 460/478. Esta região, denominada F, reflete a influência de estruturas formadas por cerca de sete anéis aromáticos conjugados. Além disso, estruturas do tipo lignina costumam fluorescer nesta região. De uma maneira geral, compostos aromáticos que apresentam um elevado grau de condensação tendem a fluorescer em maiores comprimentos de onda. Entretanto, deve-se levar em consideração a presença de diferentes substituintes que podem provocar tanto um deslocamento de picos quanto algumas oscilações na intensidade de fluorescência.

#### **1.4. Preparo e manuseio de amostras de águas naturais**

Dentre todas as operações analíticas, a etapa de pré-tratamento de amostras é considerada a mais crítica (Krug, 1996). É nesta etapa que se cometem mais erros e que se gasta mais tempo. Amostras de águas naturais, por exemplo, exigem a definição de algumas etapas bem definidas durante o procedimento de pré-tratamento.

A primeira etapa consiste em separar a fração dissolvida por filtração em membrana com 0,45 µm de porosidade. A seguir, uma alíquota do filtrado, destinada à determinação de metal total dissolvido, é acidificada para evitar a adsorção da espécie de interesse nas paredes do frasco de coleta e, ao mesmo tempo, proporcionar a dissociação parcial de complexos com a conseqüente dissolução de frações do metal para a solução. Este procedimento inicial permite que grande parte da espécie de interesse se encontre disponível para detecção analítica. Entretanto, em algumas amostras de águas naturais, uma quantidade substancial do analito pode permanecer indisponível devido à elevada

concentração de material orgânico, que pode complexar fortemente espécies metálicas através de forças de ligação, predominantemente, covalentes. A presença destes ligantes naturais orgânicos impossibilita a determinação da concentração total do analito por meio de algumas técnicas analíticas. Neste caso, existe a necessidade de implantar métodos de digestão de amostras que sejam eficazes para a destruição de compostos orgânicos interferentes.

#### **1.4.1. Digestão de amostras**

Em uma amostra de água natural são encontrados vários tipos de materiais susceptíveis à decomposição e solubilização. Alguns materiais inorgânicos presentes na fração particulada são pouco solúveis em água e só podem ser dissolvidos através de degradações químicas drásticas. Entretanto, em amostras de águas naturais, grande parte do metal encontra-se fortemente associado à matéria orgânica, sendo que em materiais inorgânicos, tais como óxidos e silicatos do tipo 1:1, acredita-se que o metal encontra-se preferencialmente adsorvido por forças de ligação predominantemente eletroativas e, portanto, dependentes do pH (Sodré *et al.*, 2001). Neste caso, a redução do pH da amostra para valores inferiores aquele denominado “ponto de carga zero” destes componentes é suficiente para promover a dissolução de grande parte dos metais associados ao material inorgânico. Assim, apenas a destruição da matéria orgânica em amostras de águas naturais pode ser bastante eficiente para a determinação de metais, tanto presentes na fração dissolvida, como também na fração total (*in natura*), que representa a concentração total recuperável do metal.

Os métodos atuais de digestão da matéria orgânica dissolvida para estudos de especiação envolvendo metais-traço procuram evitar ao máximo os riscos de contaminação através da utilização de reagentes ultrapuros que oxidam quimicamente o material orgânico. A utilização de reagentes para a destruição de material orgânico é muito efetiva para a dissolução de espécies de interesse. Substâncias como o ácido nítrico, o ácido perclórico, o ácido hipocloroso, o hipoclorito de sódio e o peróxido de hidrogênio, têm um poder excepcional de

oxidação e podem ser utilizados para a destruição de matrizes orgânicas interferentes (Krug, 1996).

Durante muito tempo, os métodos de digestão foram conduzidos em frascos abertos, com a amostra sob aquecimento contínuo. Estes métodos são utilizados até hoje, embora demandem um tempo excessivamente longo.

Métodos mais modernos lançam mão da utilização de fornos microondas, que proporcionam uma redução significativa do tempo, ou seja, um aumento na velocidade analítica e melhorias nas condições de digestão (Walter *et al.*, 1997; Lamble e Hill, 1998). A utilização de radiações na faixa das microondas, aliadas à elevada temperatura e ao poder oxidante de diversos reagentes, tem sido muito freqüente em química analítica (Jin *et al.*, 1999). A ativação de reações químicas através da energia gerada pela radiação microondas tem sido uma ferramenta bastante promissora em estudos de síntese e clivagem orgânica. (Církva *et al.*, 1999).

Em análises envolvendo a especiação química de metais-traço existe uma grande preocupação com possíveis contaminações causadas pela adição de reagentes à amostra. Muitos métodos lançam mão de uma mistura de ácidos ou outros agentes oxidantes para a destruição do material orgânico. Estes métodos são bastante efetivos, mas estão sujeitos a fontes reais de contaminação e diluição da amostra (Florian e Knapp, 2001).

Neste contexto, os processos fotoquímicos de oxidação representam uma alternativa eficiente para a destruição da matéria orgânica natural, devido principalmente à redução de tempo e das quantidades de reagentes empregados (Florian e Knapp, 2001). Estes processos baseiam-se na geração de um radical livre com elevado poder de oxidação que destrói, de maneira eficiente, ligações de caráter covalente. A combinação das radiações microondas e UV para ativação de reações químicas podem levar a uma melhora significativa na digestão de amostras de águas naturais para análise de traços (Florian e Knapp, 2001). A redução do tempo de análise e dos riscos de contaminação é um fator significativo para a escolha deste tipo de digestão de amostras. A combinação entre os dois métodos torna-se eficiente quando a radiação UV é gerada pelas microondas a

partir de uma lâmpada ou um reator UV exposto a um campo eletromagnético (Církva *et al.*, 1999).

A digestão de amostras tem um papel fundamental para estudos envolvendo a especiação química de metais em águas naturais. A importância desta prática para o preparo de amostras é mais relevante quando os métodos de detecção de metais-traço envolvem a utilização de métodos voltamétricos. Estes métodos caracterizam-se essencialmente pela detecção de formas eletroativas, isto é, metais livres em solução e fracamente complexados por ligantes naturais. Deste modo, a quantificação das concentrações total recuperável e total dissolvida de uma espécie metálica está necessariamente condicionada à completa destruição da matéria orgânica dissolvida.

#### **1.4.2. Técnicas limpas**

Estudos recentes indicam que a contaminação das amostras pela manipulação incorreta das mesmas compromete a representatividade de resultados obtidos em muitos trabalhos realizados no passado. Sabe-se que em alguns casos os erros podem gerar resultados, em termos de concentração, 100 vezes superiores ao valor verdadeiro (Windom *et al.*, 1991 *apud* Benoit *et al.*, 1997). Outro exemplo que remonta à falta de cuidados durante o manuseio da amostra é citado por Hunt (1997). A Figura 8 apresenta as comparações entre os dados de concentração de cobre obtidos para uma amostra de efluente industrial processada nos laboratórios A e B. O laboratório A adota protocolos baseados nas chamadas “técnicas limpas” que envolvem procedimentos específicos para limpeza de material e cuidados durante o preparo e a análise da amostra. O Laboratório B não possui procedimentos baseados nas técnicas limpas. Na Figura 8 são comparadas às razões dos resultados obtidos para as determinações de cobre entre os laboratórios B e A, em função das determinações do metal pelo Laboratório A, que utiliza técnicas limpas. Neste caso, uma razão igual a 1 indica que não existem diferenças entre os procedimentos adotados, porém com a redução nas concentrações do metal, observa-se um aumento na razão entre os



Laboratórios B e A indicando erros de até 10 vezes durante o preparo da amostra ou execução da análise.

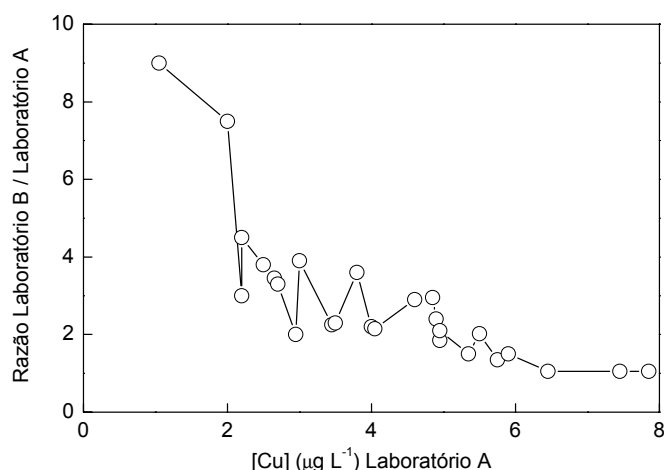


Figura 8. Influência dos procedimentos de Técnicas Limpas para determinação cobre em efluente industrial (Hunt, 1997).

A adoção de técnicas de pré-tratamento de amostras baseadas em cuidados específicos durante a coleta, a preservação, o manuseio, o preparo e a análise de amostras é importante para a execução de estudos envolvendo a especiação química de metais-traço em ambientes aquáticos naturais. Sob condições impróprias os resultados obtidos podem resultar em erros superiores à própria faixa de concentração de um elemento em amostras reais (Campos *et al.*, 2002).

### 1.5. Objetivos

Os objetivos gerais deste trabalho consistem em investigar o comportamento do cobre em águas superficiais amostradas em diferentes locais da Região Metropolitana de Curitiba e, desta forma, gerar informações sobre os efeitos do processo de urbanização no aporte e na distribuição do cobre na coluna de água, principalmente no que se refere à sua partição e especiação.

A partir de diversas abordagens e empregando uma série de procedimentos experimentais, este trabalho também buscou fornecer informações

sobre questões mais específicas envolvendo a dinâmica e a especiação do cobre em águas naturais. Desta forma os objetivos específicos deste trabalho foram:

- (i) Caracterizar os corpos aquáticos estudados como forma de conhecer a influência de parâmetros relevantes à qualidade de águas naturais na partição e especiação cobre;
- (ii) Determinar a ocorrência de cobre em águas naturais e os tipos de fontes de aporte deste metal para as águas dos rios Iraí e Iguaçu, avaliando-se também a influência sazonal e da urbanização no aporte do metal;
- (iii) Estudar a capacidade de complexação das águas frente ao cobre, com ênfase nas características de cada corpo aquático e na influência de aspectos sazonais e antropogênicos.
- (iv) Determinar os principais aspectos responsáveis pelo comportamento do cobre na coluna de água.
- (v) Caracterizar a matéria orgânica dissolvida de ambos os rios empregando diferentes técnicas espectroscópicas de fluorescência.
- (vi) Avaliar a interação entre o cobre e a matéria orgânica dissolvida através de técnicas de fluorescência nas modalidades de emissão e sincronizada

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Pontos de amostragem

Para a realização do trabalho foram selecionados pontos de amostragem localizados na bacia hidrográfica do Alto Iguaçu, na Região Metropolitana de Curitiba (RMC), no Paraná. Amostras de águas superficiais foram coletadas nos rios Iraí e Iguaçu durante um ano, entre os meses de Março de 2002 e Fevereiro de 2003, em pontos situados à montante e jusante da cidade de Curitiba, respectivamente. Estes locais foram selecionados para se avaliar a influência do processo de urbanização sobre o comportamento do cobre. A Figura 9 mostra a localização dos pontos de amostragem.

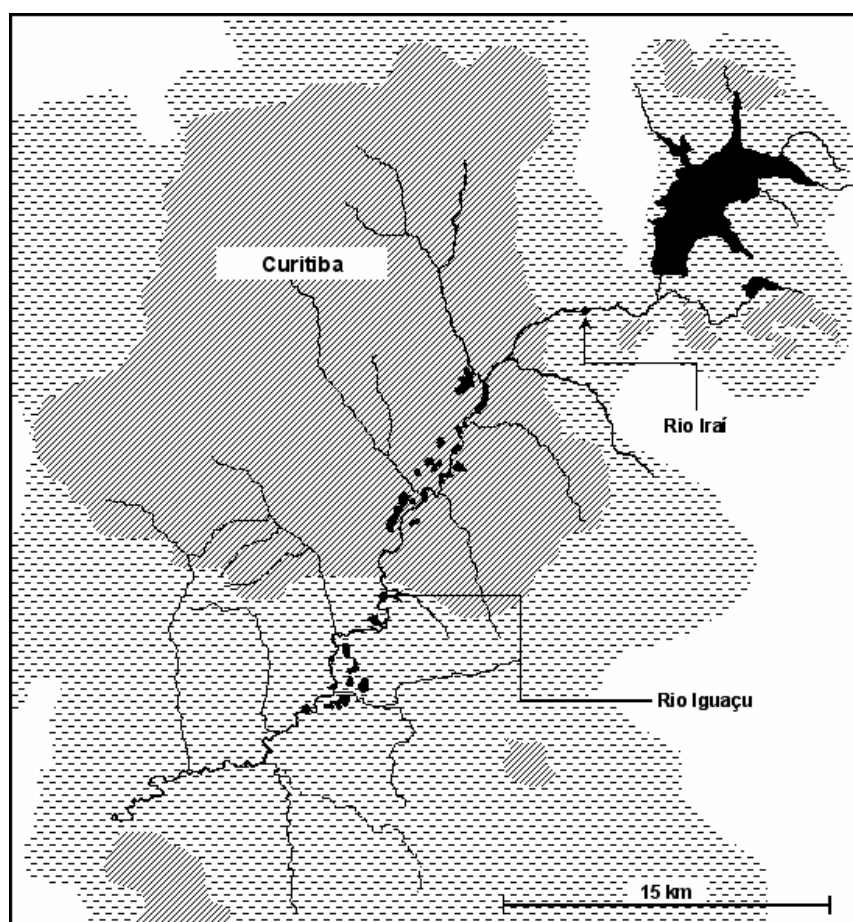




Figura 9. Localização dos pontos de amostragem à montante (Rio Iraí) e à jusante (Rio Iguaçu) da cidade de Curitiba. Os espaços sombreados  representam regiões fortemente urbanizadas e  indicam um segundo nível de urbanização.

O ponto de amostragem do Rio Iraí, elevação 890 m, 25°26'40''S 49°08'34''W, fica próximo ao ponto de captação de água utilizado pela Companhia de Saneamento do Estado do Paraná - SANEPAR, no município de Pinhais. O ponto de amostragem do Rio Iguaçu, elevação 865 m, 25°32'16''S 49°13'32''W, localiza-se próximo ao jardim zoológico do município de São José dos Pinhais. A Figura 10 mostra os locais de amostragem em ambos os rios.



Figura 10. Fotografias mostrando os locais de amostragem nos rios Iraí (A) e Iguaçu (B).

A bacia hidrográfica do Iguaçu é o maior complexo hídrico do estado do Paraná, ocupando uma área de 55024 km<sup>2</sup>. Suas nascentes localizam-se na frente meridional da Serra do Mar, nas proximidades de Curitiba e o rio se estende por 1275 km até a sua foz (SUDERHSA, 1997). A população de toda a bacia é estimada em mais de 3,2 milhões de habitantes, sendo que na RMC vivem cerca de 2,1 milhões de habitantes. A região denominada Alto Iguaçu compreende o complexo hídrico situado na RMC. Esta região exhibe uma grande concentração populacional e extensas atividades industriais, comerciais e de serviços. Na Bacia do Alto Iguaçu, o Rio Iguaçu recebe como principais afluentes os rios Iraí, Atuba, Belém, Barigui e Passaúna. Dentre estes tributários destacam-se o Rio Iraí, que é responsável pelo fornecimento de cerca de 70% da água destinada ao abastecimento público na cidade de Curitiba e o Rio Belém, que apresenta elevado grau de impactação e afluí no Rio Iguaçu entre os dois pontos de coleta utilizados neste trabalho (SUDERHSA, 1997).

## **2.2. Técnicas limpas**

Devido aos baixos níveis de cobre freqüentemente encontrados em ambientes aquáticos naturais, alguns procedimentos foram adotados para reduzir contaminações originadas durante as etapas de amostragem, preservação, pré-tratamento e análise. Desta forma foram empregados procedimentos fundamentados no uso de técnicas limpas (Campos *et al.*, 2002; Benoit *et al.*, 1997) em todas as etapas envolvidas na realização deste trabalho.

### **2.2.1. Limpeza de materiais**

Todos os materiais empregados na determinação de cobre foram primeiramente lavados com água corrente, detergente comercial e escova. Em seguida, foram enxaguados e deixados em banho de detergente comercial 5% durante uma semana. Após este período, os frascos foram enxaguados 5 vezes com água de torneira e 3 vezes com água destilada. Em seguida, foram imersos em banho de HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup> por, no mínimo, 5 dias. Finalmente, os materiais foram retirados do banho de ácido com o auxílio de luvas de polietileno limpas e

enxaguados exaustivamente com água Milli-Q (Milli-Q Academic, Millipore). Tanto o banho de detergente quanto o de ácido foram preparados em recipientes plásticos com tampa. Todos os materiais foram inteiramente imersos nos banhos, pois a limpeza externa do material é tão importante quanto a interna (Statham e Howard, 1993). Os frascos de coleta foram preenchidos completamente com solução  $\text{HNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , preparada em água Milli-Q, e armazenados em sacos plásticos duplos (U.S.EPA, 1996). Durante todo o processo de limpeza, os materiais não foram colocados diretamente na bancada, mas sim em bandejas plásticas limpas.

### **2.2.2. Amostragem**

Amostras das águas naturais foram coletadas com o auxílio de um balde de polietileno previamente ambientado com a própria água a ser coletada. As amostras foram cuidadosamente transferidas para frascos de polietileno previamente ambientados (U.S.EPA, 1996). As coletas foram realizadas por, pelo menos, duas pessoas de acordo com a abordagem denominada mãos sujas-mãos limpas, onde uma pessoa é responsável pelo manuseio dos materiais que não entram em contato direto com a amostra e a outra manipula somente os materiais destinados a receber a amostra (U.S.EPA, 1996). Os frascos contendo as amostras foram duplamente ensacados e armazenados em caixa de isopor preenchida com gelo. As amostras foram mantidas resfriadas durante todo o trabalho de campo para evitar a dessorção de metais do material particulado para a solução e também para minimizar a atividade biológica (Campos *et al.*, 2002). Durante todo o período de amostragem foram utilizadas luvas cirúrgicas sem talco e luvas de polietileno limpas.

### **2.2.3. Manipulação da amostra e de materiais**

Durante o manuseio da amostra ou dos materiais empregados na determinação de cobre foram utilizadas luvas cirúrgicas sem talco e luvas descartáveis de polietileno limpas. Alguns materiais, tais como membranas de filtração e barras magnéticas de agitação, foram sempre manuseados com auxílio

de uma pinça plástica. No momento da preparação das alíquotas para análise, materiais como células voltamétricas e potenciométricas, aparatos de filtração, entre outros, foram colocados para escorrer sobre lenço de papel limpo e, em seguida, tampados com placas de Petri de poliestireno quando necessário. Adições da amostra ou de reagentes foram realizadas rapidamente. No intervalo entre cada medida voltamétrica ou potenciométrica o conjunto de eletrodos foi lavado com água Milli-Q, HCl 1 mol L<sup>-1</sup> e, novamente, com água Milli-Q. Todos os reagentes empregados neste trabalho foram de grau analítico ou purificados em laboratório. A purificação de HCl e NH<sub>3</sub> foi obtida por destilação isotérmica conforme descrito por Campos e colaboradores (2002).

### **2.3. Coleta das amostras**

Em cada ponto de amostragem foram utilizados dois frascos de coleta com capacidade para armazenar 1 L de amostra. As coletas foram realizadas nos dois rios em um mesmo dia, sendo que cada expedição de amostragem durou, em média, 2 horas. No laboratório, as amostras foram imediatamente filtradas a vácuo em sistema fechado utilizando membranas de acetato de celulose (Schleicher & Shuell), com 0,45 µm de porosidade, para separar a fração dissolvida. Alíquotas reservadas para a determinação de cobre na fração dissolvida e na amostra *in natura* foram imediatamente acidificadas com HCl purificado até pH < 2. Em seguida, todas as amostras foram preservadas a 4 °C, em refrigerador, até a realização das análises (Campos *et al.*, 2002).

### **2.4. Digestão de amostras**

O procedimento de digestão proposto neste trabalho baseia-se na ação da radiação ultravioleta gerada em um reator ativado por microondas. O reator UV LAB EL 10, comercializado pela UMEX (Dresden, Alemanha), possui capacidade para processar até 15 mL de amostra e é constituído por dois corpos cilíndricos concêntricos de diferentes diâmetros. Um esquema representativo do reator fotoquímico é mostrado na Figura 11.

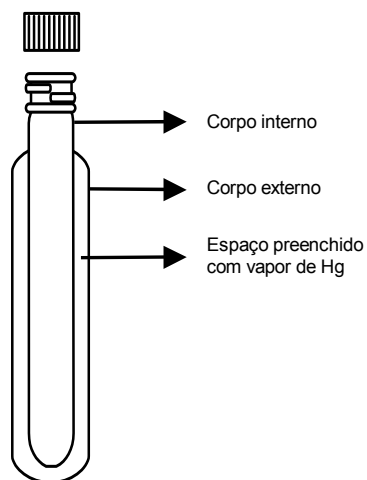


Figura 11. Representação esquemática do reator fotoquímico UV LAB EL 10 utilizado nos experimentos de fotodegradação

O corpo interno é de quartzo de elevada permeabilidade à radiação UV, enquanto que corpo externo é constituído de vidro de borossilicato, de baixa permeabilidade ao UV. O espaço entre ambos é preenchido com vapor de mercúrio à baixa pressão. A Figura 12 mostra o espectro de emissão, fornecido pelo fabricante, para o reator e, no detalhe, o reator fotoquímico em funcionamento.

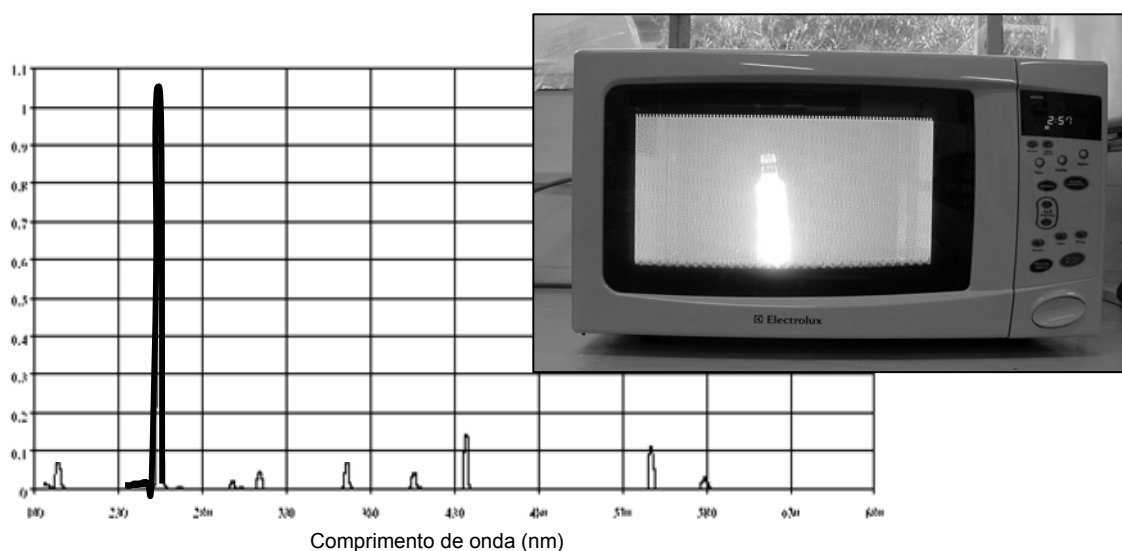


Figura 12. Espectro de emissão para reator fotoquímico UMEC UV LAB EL 10. No detalhe, foto do reator em funcionamento no forno microondas.



#### **2.4.1. Otimização do procedimento de digestão**

Inicialmente, foi preparada uma solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico comercial (Aldrich - 35% de C), em água Milli-Q. Uma alíquota de 15 mL desta solução foi transferida para o reator que foi então inserido, sem a tampa, no forno microondas (Electrolux ME 900). Durante a digestão, foram empregados ciclos de até 3 min de irradiação, utilizando-se a potência máxima nominal do forno microondas, de cerca de 900 W. Um bquer contendo aproximadamente 1 L de água foi colocado no forno juntamente com o reator, para dispersar o calor gerado e evitar perdas por ebulição da amostra. Entre cada ciclo de irradiação a água contida no bquer foi trocada e o reator permaneceu em banho de gelo durante cerca de 5 min. A degradação do ácido húmico foi avaliada através de medidas de fluorescência, realizadas em um espectrofotômetro de emissão de fluorescência (Hitachi F4500), utilizando os comprimentos de onda de excitação e emissão de 315 e 440 nm, respectivamente (Campos *et al.*, 2001). A eficiência do processo de digestão foi avaliada na ausência e na presença de peróxido de hidrogênio. Neste caso, foram adicionados 12 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (Biotec). Em algumas amostras também foram determinados os teores de carbono orgânico total durante o procedimento de digestão.

A eficiência da digestão também foi avaliada a partir de testes de recuperação do cobre em soluções contendo ácido húmico comercial e em suspensões preparadas com um Latossolo Vermelho distroférrico (LVd) de características químicas, físicas e mineralógicas bem definidas (Sodré *et al.*, 2001).

Alíquotas de uma solução 20 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico foram enriquecidas com 5, 10 e 20 µg L<sup>-1</sup> de cobre (Tritisol, Merck) e mantidas sob agitação durante 24 h. Em seguida, foram acidificadas até pH < 2 com HNO<sub>3</sub> (Merck) e digeridas durante 6 min na presença de 12 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. As suspensões foram preparadas empregando-se 10, 20 e 50 mg L<sup>-1</sup> de solo, previamente moído em gral de porcelana e passado em peneira de 0,074 mm para uniformizar a dimensão dos agregados e evitar diferenças na sorção de metais (Sodré *et al.*, 2001). As suspensões foram então enriquecidas com 10, 20 e 50 µg L<sup>-1</sup> de cobre e mantidas

sob agitação durante 24 h. Em seguida, foram acidificadas até  $\text{pH} < 2$  e digeridas durante 12 min na presença de 24  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sendo que 12  $\mu\text{L}$  foram adicionados no início e o restante, após 6 min de digestão.

A digestão também foi avaliada empregando-se amostras de águas naturais coletadas nos rios Iraí e Iguaçu. As alíquotas reservadas para a determinação de cobre total dissolvido foram enriquecidas com 2, 5 e 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  de cobre e a amostra *in natura*, com 10, 20 e 30  $\mu\text{g L}^{-1}$  deste metal. Após agitação, foram imediatamente acidificadas com  $\text{HNO}_3$  e submetidas à digestão no reator ativado por microondas.

## 2.5. Especificação do cobre

A especificação do cobre consistiu na determinação das concentrações do metal na amostra *in natura* e na fração dissolvida, além da determinação da fração lábil do metal através da técnica de competição de ligantes, utilizando-se etilenodiamina (EN) como ligante sintético de competição (Scarano *et al.*, 1992). O procedimento experimental adotado para a especificação do cobre encontra-se esquematizado na Figura 13.

Para a determinação dos teores de cobre total dissolvido, aqui denominado CuTD, e cobre total recuperável (CuTR), alíquotas previamente acidificadas das frações dissolvida e *in natura*, respectivamente, foram digeridas utilizando o procedimento descrito na Seção 2.4. Após digestão, uma alíquota da fração dissolvida foi enriquecida com EN até que a concentração final do ligante de competição fosse de 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$ . O pH foi ajustado para  $8,0 \pm 0,2$  e a solução foi mantida em repouso durante 12 horas. As determinações de CuTD, na amostra contendo EN, e de CuTR, foram realizadas por Voltametria de Redissolução Anódica com Pulso Diferencial (VRAPD), pelo método de adição de padrões em um potenciostato EG&G PAR M394 acoplado a um sistema de eletrodos SMDE EG&G PAR 303A utilizando o modo gota pendente de mercúrio.

Os parâmetros instrumentais para determinação de CuTR e CuTD foram: 10 min de purga com  $\text{N}_2$  e eletrodeposição a -0,6 V durante 15 min. Em seguida foi feita uma varredura de potencial no sentido anódico, de -0,6 V até 0,1 V a 4 mV

$s^{-1}$ , com amplitude de pulso de 50 mV. Para a determinação de CuTD, a força iônica do meio foi ajustada para  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  com KCl (Merck), enquanto que CuTR foi determinado em meio ácido.

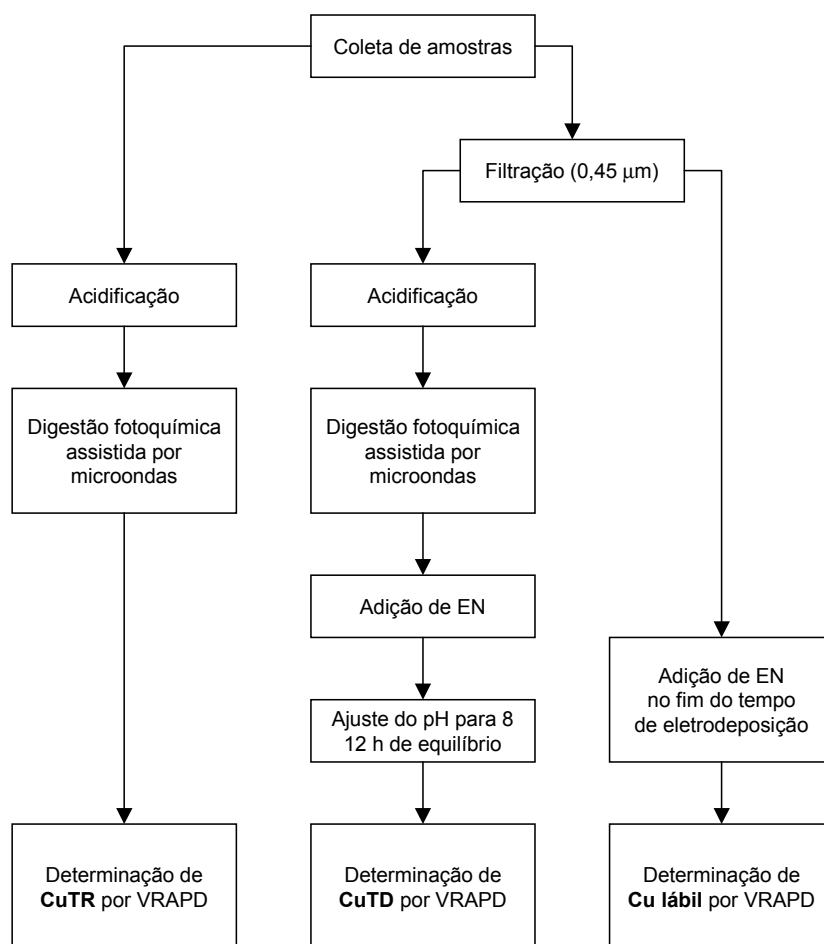


Figura 13. Fluxograma do procedimento analítico adotado para a determinação da especiação do cobre em águas naturais.

Na amostra filtrada, contendo EN, foi obtido o valor da corrente de intensidade máxima,  $I_p^{máx}$ . Uma outra alíquota da fração dissolvida, não digerida, foi submetida ao mesmo procedimento analítico utilizado na determinação voltamétrica de CuTD. Neste caso, contudo, o ligante de competição foi adicionado apenas alguns segundos antes do fim do período de deposição. Nesta amostra foi obtido o valor de intensidade de corrente inicial,  $I_p^0$ . A concentração de

cobre lábil foi calculada a partir da multiplicação do valor de CuTD pelo valor obtido para a razão  $I_p^0/I_p^{máx}$ .

## 2.6. Capacidade de complexação das amostras frente ao cobre

A determinação da capacidade de complexação das amostras dos rios Iraí e Iguaçu frente ao cobre foi efetuada tanto para as amostras filtradas quanto para as amostras *in natura*, de acordo com o procedimento mostrado na Figura 14.

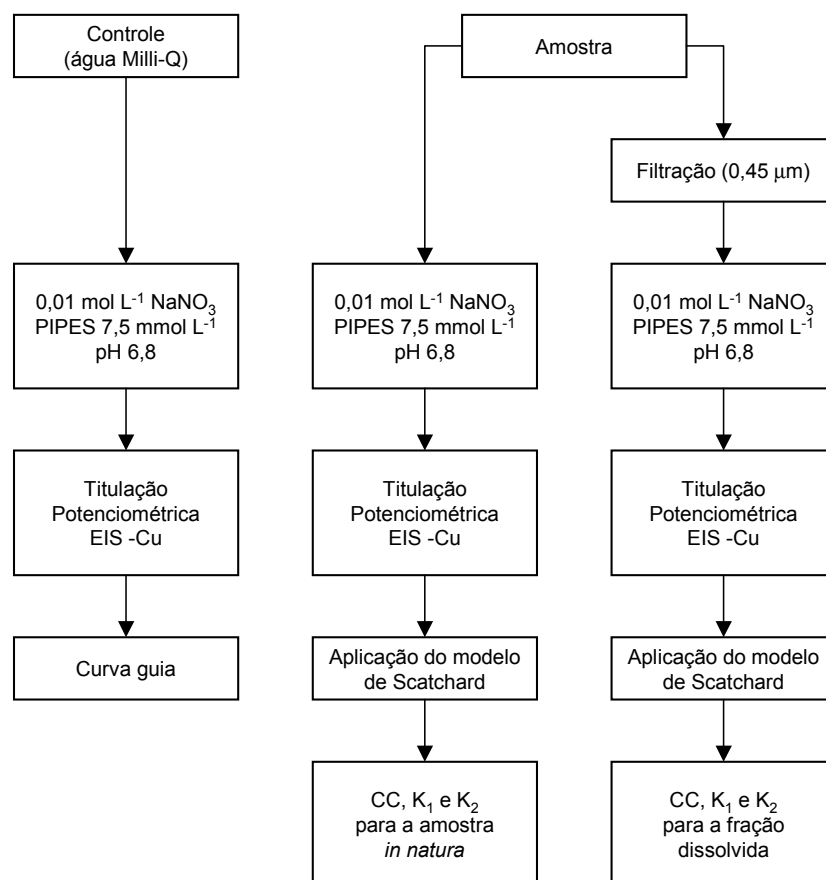


Figura 14. Fluxograma do procedimento adotado para determinação da capacidade de complexação das amostras frente ao cobre

Os parâmetros de complexação foram obtidos através de titulações potenciométricas das amostras utilizando eletrodo íon-seletivo sensível a cobre (Orion 94 29), eletrodo de referência com dupla junção Ag/AgCl (Orion 90 02) e

soluções de cobre como titulante. As adições foram feitas com o auxílio de uma microbureta (Gilmont) capaz de dispensar volumes de até 2  $\mu\text{L}$  de titulante. Para este procedimento, 50 mL da amostra foram transferidos para béqueres de polietileno previamente lavados e ambientados. A força iônica foi ajustada em 0,01 mol  $\text{L}^{-1}$  com  $\text{NaNO}_3$  e o pH foi ajustado em 6,8 após adição de tampão PIPES a 7,5 mmol  $\text{L}^{-1}$ . Os dados obtidos em uma curva guia, obtida a partir da titulação em uma amostra controle (água Milli-Q), foram utilizados para confrontar os dados obtidos nas titulações das amostras. Desta forma, foram obtidos os valores de cobre livre (Cu) e cobre complexado (CuL). Estes valores foram utilizados para ajustar os valores experimentais ao modelo de complexação de Scatchard, que fornece valores de capacidade de complexação (CC) e constantes de estabilidade condicionais ( $K$ ) para até dois sítios de complexação (Scatchard, 1949).

## 2.7. Análises complementares

### *pH*

O pH das amostras foi medido em uma alíquota *in natura* logo após a coleta. Antes das medidas, realizadas em laboratório, o sistema de eletrodos foi calibrado com tampões pH 7,00 e 4,00.

### *Cloreto*

A determinação do teor de cloretos foi realizada através do método indireto de precipitação de Möhr (Argentimetria) (APHA, 1995).

### *Alcalinidade Total*

A alcalinidade total, expressa em mg  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , foi determinada nas amostras *in natura* através de titulação potenciométrica, utilizando HCl purificado como titulante, até pH 4,5 (APHA, 1995).

### *Sólidos Suspensos Totais (SST)*

Uma alíquota da amostra *in natura* foi filtrada em membrana de fibra de vidro (GFC-52 Schleicher & Shuell) de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade. A membrana

contendo o material particulado em suspensão foi levada à estufa a 103-105 °C até peso constante (APHA, 1995).

#### *Carbono Orgânico Dissolvido (COD)*

O teor de carbono orgânico dissolvido foi determinado através do método de combustão catalítica e detecção no infravermelho não dispersivo em um equipamento Shimadzu TOC5000. As amostras foram mantidas a 4 °C e foram acidificadas com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

#### *Oxigênio Dissolvido (OD)*

A determinação de oxigênio dissolvido foi realizada pelo método de Winkler. A amostra foi transferida para frascos de vidro com tampa esmerilhada contendo MnSO<sub>4</sub> e azida por sifonamento. No laboratório a amostra foi titulada com tiosulfato de sódio após adição de ácido sulfúrico (APHA, 1995).

#### *Caracterização do material particulado*

Cerca de 5 L de água foram centrifugados a 2000 rpm durante 2 h. O sobrenadante foi isolado e o material particulado foi cuidadosamente retirado dos frascos de centrífuga, transferidos para placas de Petri de poliestireno e secas ao ar. O material particulado foi submetido a análises de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) (Bruker ESP 300E) e difração de raios-X (Shimadzu XRD 600).

#### *Fluorescência molecular*

Amostras dos rios Iraí e Iguaçu, referentes a diferentes períodos sazonais, foram coletadas, filtradas em membrana de 0,45 µm de porosidade e submetidas à caracterização da matéria orgânica dissolvida por fluorescência molecular de emissão, matriz excitação-emissão e sincronizada. Espectros de excitação-emissão foram empregados para definição dos parâmetros analíticos. Foram obtidos espectros de emissão de fluorescência na faixa entre 345 a 600 nm, sendo que o comprimento de onda de excitação foi fixado em 330 nm. Espectros de fluorescência sincronizada foram registrados de 250 a 600 nm utilizando um

intervalo de 18 nm entre os comprimentos de onda de excitação e emissão, ou seja,  $\lambda_{em} = \lambda_{exc} + 18 \text{ nm}$ . Todos os espectros foram obtidos com largura de fenda dos monocromadores de 5 nm. A velocidade de varredura foi fixada em  $240 \text{ nm min}^{-1}$  e a resolução espectral foi de 0,2 nm. As amostras foram analisadas em uma cela de quartzo multifacetada com tampa de teflon (Sigma) com 3,5 mL de capacidade.

## **2.8. Capacidade de complexação por supressão de fluorescência.**

A interação entre a matéria orgânica natural e o cobre foi determinada por meio do efeito de supressão da fluorescência, que ocorre quando quantidades crescentes de metais paramagnéticos são adicionadas às amostras. A supressão de fluorescência foi monitorada em soluções de ácido húmico comercial e natural, bem como em amostras da fração dissolvida de águas naturais coletadas nos rios Iraí e Iguaçu. Para cada determinação, 200 mL de amostra foram tituladas com cobre (Tritisol, Merck) até que a concentração final do metal em solução fosse de  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ . A força iônica das amostras foi previamente ajustada para  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  empregando  $\text{KNO}_3$ . A supressão da fluorescência foi avaliada empregando-se os modos de emissão e sincronizado. A concentração de sítios ligantes e a constante de estabilidade condicional foram obtidos por meio do ajuste dos dados experimentais empregando o modelo de regressão não-linear proposto por Ryan e Weber (1982a).

## **2.9. Experimentos de partição do cobre em amostras modelo**

Amostras modelo, representativas dos rios Iraí e Iguaçu, foram preparadas empregando-se amostras de sedimento e água coletados em cada rio. O sedimento dos rios foi coletado e utilizado para representar o material particulado natural presente em ambos os corpos aquáticos. A Figura 15 mostra um esquema representativo referente ao preparo das amostras modelo.

Os locais de amostragem dos sedimentos foram os mesmos utilizados durante o período de coleta de águas naturais. As amostras de sedimento foram coletadas com a utilização de um testemunhador, isto é, um tubo de PVC, com

cerca de 10 cm de diâmetro interno e 50 cm de altura. Após a coleta, o testemunho foi acondicionado em sacos plásticos apropriados, transferidos para uma caixa de isopor preenchida com gelo e transportados ao laboratório, onde foram congelados até a condução dos experimentos. Os sedimentos foram descongelados em bancada, à temperatura ambiente. Em seguida, uma porção equivalente aos primeiros 3 cm do testemunho foi separada com o auxílio de uma espátula de teflon e mantida sob repouso em um recipiente apropriado até a secagem. As amostras de sedimento foram moídas em um gral de porcelana e peneiradas em redes de nylon de 390 Mesh.

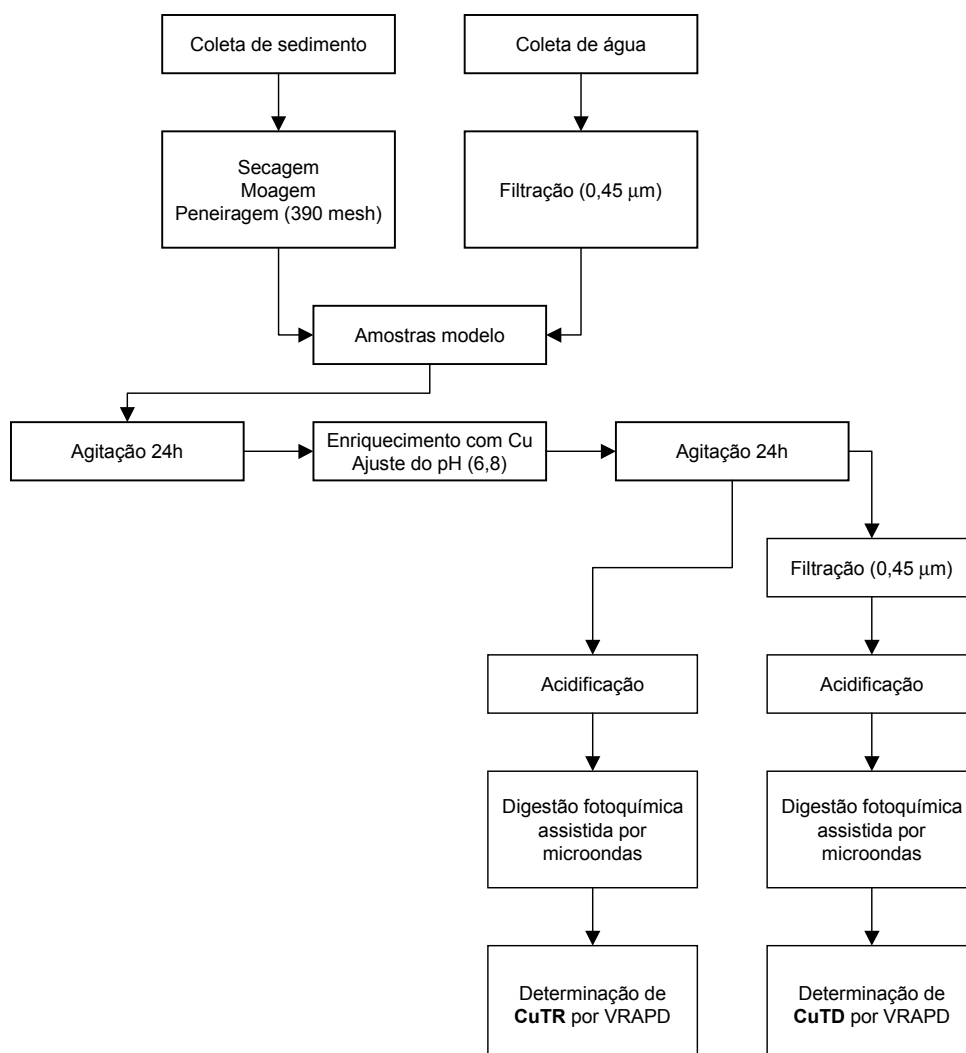


Figura 15. Fluxograma do procedimento utilizado para o preparo das suspensões representativas dos rios Iraí e Iguaçu



Amostras de águas naturais dos Rios Iraí e Iguaçu também foram coletadas e filtradas em membrana de acetato de celulose com 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade para a separação da fração dissolvida. A fração dissolvida de cada amostra foi utilizada para a preparação das suspensões contendo quantidades crescentes de sedimento. As suspensões dos Rios Iraí e Iguaçu foram preparadas contendo 5, 10, 25, 50, e 100  $\text{mg L}^{-1}$  de sedimento em frascos de polietileno contendo 100 mL da água filtrada coletada em cada corpo aquático. Em seguida, as suspensões foram mantidas sob agitação durante 24 h e, finalmente, enriquecidas com 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  de cobre (Tritisol, Merck). As suspensões enriquecidas com o metal de interesse foram mantidas sob agitação por 24 h para que a espécie metálica entrasse em equilíbrio termodinâmico. As determinações dos teores de CuTD e CuTR foram realizadas como descrito na Seção 2.5.

As amostras modelo também foram submetidas à avaliação da capacidade de complexação das frente ao cobre empregando o mesmo procedimento mostrado na Figura 14. Alíquotas dos sedimentos, que foram uniformizados em peneira de 390 Mesh, também foram submetidas a análises qualitativas por difratometria de raios-X e por ressonância paramagnética eletrônica (RPE).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para se obter resultados representativos com relação ao conteúdo de metais em amostras de águas naturais é preciso que sejam adotadas técnicas analíticas capazes de determinar concentrações reduzidas da espécie de interesse, uma vez que, nestas amostras, muitos metais encontram-se em concentrações denominadas traço. Neste sentido, as técnicas voltamétricas de redissolução vêm sendo amplamente utilizadas para determinação de metais-traço em águas naturais, por se constituírem técnicas que conferem sensibilidade e seletividade elevadas (Bott, 1995). Além disso, a voltametria também tem sido empregada na determinação da especiação de metais-traço em águas naturais.

#### 3.1. Determinação de cobre por voltametria

Neste trabalho a determinação do cobre foi realizada por meio da voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial empregando-se o método de adição de padrões que consiste em adicionar quantidades conhecidas da espécie de interesse na amostra e monitorar, nestes casos, a corrente gerada durante a redissolução do analito após cada adição. A Figura 16 mostra um conjunto típico de voltamogramas obtido na determinação do cobre por VRAPD em amostra de água natural.

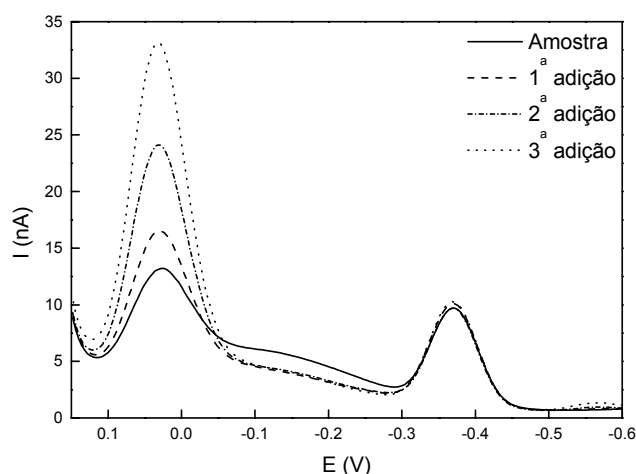


Figura 16. Voltamogramas obtidos durante a determinação de cobre em uma amostra de água natural por VRAPD. Força iônica:  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ;  $E_{\text{dep}} = -900 \text{ mV}$  (vs Ag/AgCl);  $t_{\text{dep}} = 240 \text{ s}$ ; amplitude do pulso =  $50 \text{ mV}$ ; velocidade de varredura =  $4 \text{ mV s}^{-1}$ .

Na Figura 16 observam-se dois picos distintos, sendo que o pico localizado em 0,06 V é referente redissolução do cobre e o pico próximo a -0,4 V representa, provavelmente, a intensidade de corrente gerada pela redissolução de chumbo. Nota-se que a adição consecutiva de cobre à amostra promove o aumento da intensidade de corrente em 0,06 V sem provocar qualquer alteração no pico de redissolução do chumbo. Os valores de intensidades de corrente foram usados para se construir um novo gráfico que relaciona a intensidade de corrente em função da concentração da espécie de interesse na amostra após cada adição. O método de adição de padrões é apropriado para se trabalhar com amostras de águas naturais, pois a complexidade da matriz pode provocar mudanças do sinal analítico devido à presença de outros constituintes da amostra além do analito. A adição de pequenos volumes de padrão concentrado à amostra não afeta significativamente a composição da matriz, que se mantém a mesma durante a determinação. Uma curva típica de adição de padrões é mostrada na Figura 17.

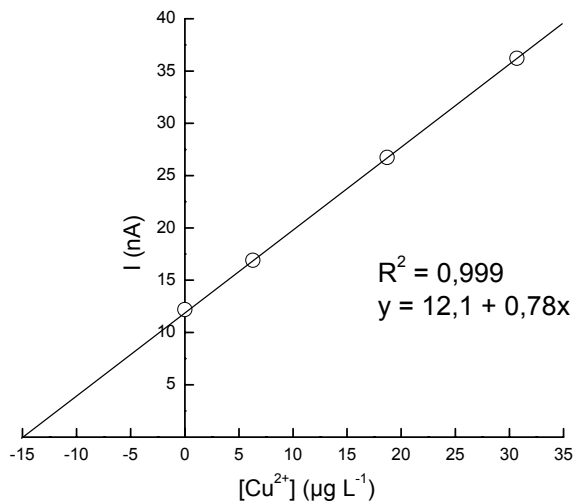


Figura 17. Determinação da concentração do cobre pelo método de adição de padrão.

Na Figura 17 observa-se uma correlação linear (0,999) entre a intensidade de corrente e a concentração de cobre adicionada. O teor de cobre na amostra foi obtido a partir da interseção da curva de regressão linear com o eixo das

abscissas. Neste caso, a concentração foi obtida a partir da equação de reta considerando-se  $y = 0$  (Harris, 2000). O valor de  $x$ , em módulo, foi de 15,5 e representa a concentração de cobre em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

### 3.2. Digestão de Amostras

A implantação de um método para a determinação da especiação física e química do cobre demanda o estabelecimento de processos de pré-tratamento da amostra que permitam a quantificação do metal presente em diferentes formas e, igualmente, em diferentes frações que compõe a amostra. Neste trabalho, optou-se pelo desenvolvimento de um processo de digestão de amostras, neste caso, essencial para a obtenção dos teores totais de cobre em águas naturais, especialmente quando a determinação do cobre é realizada por VRAPD.

A quantificação dos teores de metais, tanto na fração dissolvida, quanto na amostra *in natura*, contendo o material particulado em suspensão, está associada a uma etapa de digestão que leve à solubilização da espécie de interesse, seja pela completa destruição dos ligantes naturais, ou ainda pela degradação parcial de compostos interferentes (Achterberg *et al.*, 2001). No material particulado em suspensão, estes ligantes compreendem uma grande variedade de compostos, geralmente, minerais, partículas orgânicas incluindo substâncias húmicas, microorganismos e tecidos biológicos e partículas inorgânicas cobertas por material orgânico (Shi *et al.*, 1998; Grassi *et al.*, 2000). Na fração dissolvida, a presença da matéria orgânica pode resultar em interferências na quantificação de metais por voltametria através da formação de metalo-complexos estáveis e inertes à detecção, além de competir com a espécie de interesse pela superfície do eletrodo de trabalho, reduzindo assim a sensibilidade da medida e provocando o aparecimento de sinais interferentes (van den Berg, 1988). Assim, a destruição dos complexos orgânicos torna-se uma etapa fundamental na análise de metais por voltametria.

Neste sentido, o procedimento experimental baseou-se na digestão fotoquímica, assistida por microondas, de amostras sintéticas contendo ácido húmico comercial. A utilização de ácido húmico é recomendada, neste tipo de

estudo, como forma de mimetizar o comportamento da matéria orgânica dissolvida natural (Wang *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2001).

Na etapa de otimização do procedimento, a duração máxima de cada ciclo de digestão foi de 3 min. Sob estas condições, a perda de amostra por ebulição foi inferior a 0,1%. Desta forma, todas as soluções foram submetidas à digestão em ciclos de até 3 min de duração.

A Figura 18 mostra espectros de fluorescência molecular obtidos para uma solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico comercial após diferentes tempos de irradiação empregando-se o reator fotoquímico ativado por microondas.

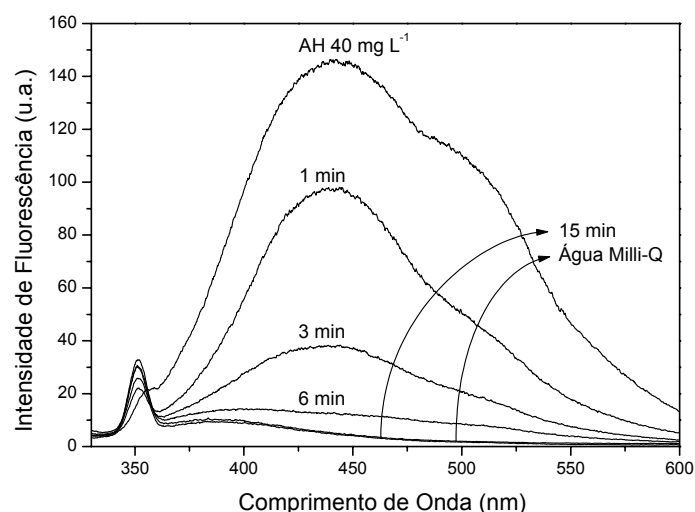


Figura 18. Espectros de fluorescência para uma solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico após diferentes tempos de irradiação com luz UV. ( $\lambda_{exc}$ : 315 nm e  $\lambda_{em}$ : 440 nm).

Na Figura 18 pode-se observar que a intensidade emitida apresentou uma redução considerável em 15 min de irradiação. Neste período, a redução da emissão de fluorescência foi de cerca de 99%.

O procedimento de digestão de amostras apresentado neste trabalho permitiu uma redução significativa no tempo necessário para destruição da matéria orgânica dissolvida, quando comparado com resultados descritos na literatura. Para uma solução 15 mg C L<sup>-1</sup> de ácido húmico, Achterberg e van den

Berg (1994) relataram a necessidade de utilizar mais de 5 h para a total destruição da amostra irradiada com luz UV gerada a partir de uma lâmpada a vapor de mercúrio. Campos e colaboradores (2001) avaliaram a eficiência de um reator artesanal na fotodegradação de soluções de ácido húmico a 4, 6, 8 e 12 mg C L<sup>-1</sup>. Para a solução mais diluída, foram necessários 30 min para se atingir uma redução de aproximadamente 99% da emissão de fluorescência. Para as soluções mais concentradas, foram necessários até 120 min de exposição à irradiação.

A Figura 19 mostra espectros de fluorescência molecular obtidos durante a digestão de amostra de ácido húmico comercial combinada à adição de peróxido de hidrogênio.

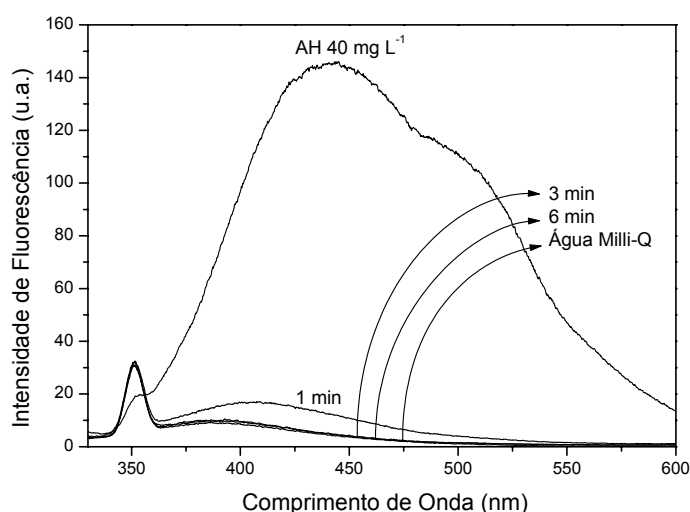


Figura 19. Espectros de fluorescência para uma solução de AH 40 mg L<sup>-1</sup> após diferentes tempos de irradiação com luz UV e adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. ( $\lambda_{exc}$  = 315 nm e  $\lambda_{em}$  = 440 nm).

Na Figura 19, pode-se observar que quando a solução de ácido húmico 40 mg L<sup>-1</sup> foi enriquecida com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, foram necessários apenas 3 min para se atingir praticamente 100% de redução da emissão de fluorescência. Além disso, os teores de COD determinados nestas amostras apresentaram uma redução de 95% após 6 min de irradiação.

Neste caso, o tempo de digestão apresentou-se reduzido devido à fotólise direta do peróxido de hidrogênio em meio aquoso, que gera radicais  $\cdot\text{OH}$  de elevada reatividade (Wang *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2001). O radical hidroxila ataca uma gama de compostos orgânicos alifáticos e aromáticos com constantes de velocidade que variam na faixa de  $10^6$  a  $10^{10} \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$  (Buxton *et al.*, 1988). A utilização de peróxido de hidrogênio durante o procedimento mostrou-se bastante eficiente para a digestão de amostras de águas naturais. Apenas uma pequena quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi necessária para reduzir o tempo de digestão em cerca de 80% sem representar uma fonte de contaminação e diluição da amostra. Além disso, após 6 min de irradiação foi observada a ausência de peróxido residual (Oliveira *et al.*, 2001), que pode interferir na determinação de metais em análises voltamétricas.

Para testar a eficiência do reator em uma amostra de água salina, uma alíquota da solução  $40 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido húmico foi enriquecida com uma mistura contendo  $\text{NaCl}$ ,  $\text{MgSO}_4$  e  $\text{NaHCO}_3$  (salinidade 34,2). Neste caso, foi observada uma redução superior a 97% do sinal de emissão do ácido húmico em 27 min de irradiação. Este aumento no tempo de digestão, em comparação às soluções não-salinas, pode ser resultado da competição existente entre a matéria orgânica e o bicarbonato por radicais  $\cdot\text{OH}$  gerados no processo fotoquímico (Wang *et al.*, 2000).

Um teste conduzido com o auxílio de um tubo de ensaio de borossilicato foi realizado para se comparar a eficiência da radiação UV com outros fatores, tais como radiação microondas, temperatura (cerca de  $75^\circ\text{C}$ ) e presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Tanto o reator quanto o tubo de ensaio possuem capacidade para processar cerca de 15 mL de amostra. A Figura 20 mostra a variação da concentração relativa de ácido húmico, obtida pela intensidade máxima de fluorescência determinada em 440 nm, em função dos tempos de digestão obtidos com a utilização do reator ativado por microondas e do tubo de ensaio.

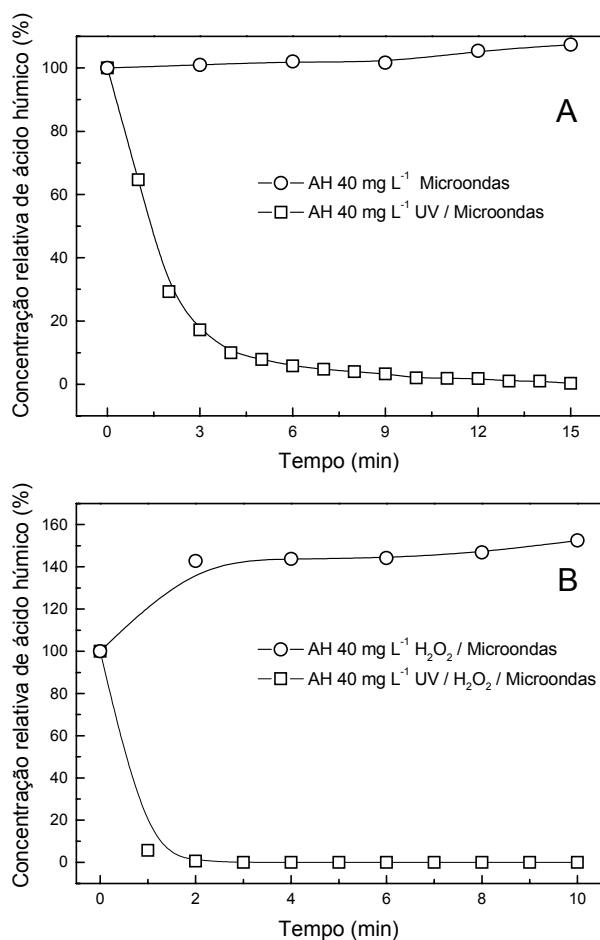


Figura 20. Concentração relativa de ácido húmico (AH) expressa como porcentagem do sinal de emissão de fluorescência em 440 nm ( $\lambda_{exc} = 315$  nm). (A) AH 40 mg L<sup>-1</sup> e (B) AH 40 mg L<sup>-1</sup> na presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Amostras processadas em um tubo de ensaio de borossilicato (○) e no reator fotoquímico ativado por microondas (□)

Na Figura 20A observa-se que uma solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico apresentou uma redução considerável da emissão de fluorescência utilizando o reator ativado por microondas. Para a solução contida no tubo de ensaio, a emissão permaneceu praticamente constante. Quando as soluções contendo ácido húmico foram enriquecidas com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Figura 20B), observou-se uma rápida redução inicial da emissão de fluorescência para a solução contida no reator fotoquímico. Utilizando-se o tubo de ensaio, ao contrário, observou-se um aumento de cerca de 40% no sinal de fluorescência logo no início do processo.



Os resultados apresentados indicam que a radiação UV gerada pelo reator mostrou-se essencial na digestão das soluções contendo ácido húmico. Assim, fatores como radiação microondas e temperatura não foram suficientes para promover a degradação do material na mesma escala de tempo observada com a utilização do reator. A presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  estabeleceu comportamentos diferentes em relação à emissão de fluorescência das soluções contendo ácido húmico. Quando se emprega o reator fotoquímico, a radiação UV é responsável pela geração de radicais hidroxila a partir da fotólise do peróxido de hidrogênio. Por outro lado, o aumento do sinal de fluorescência observado para a solução processada no tubo de ensaio pode ser consequência do poder oxidante do  $\text{H}_2\text{O}_2$  que degrada parcialmente a matéria orgânica gerando sub-grupamentos fluoróforos (Campos *et al.*, 2001) ou ainda pela supressão do sinal de fluorescência no início do processo.

### 3.2.1. Testes de recuperação de cobre

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos para testes de recuperação de cobre em soluções contendo  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido húmico. Nesta etapa, todas as determinações de cobre por VRAPD foram realizadas em triplicata, obtendo-se desvios médios inferiores a 10%.

Tabela 2. Testes de recuperação para uma solução  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido húmico comercial enriquecida com cobre ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e irradiada durante 6 min na presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

[Cu] adicionado	[Cu] determinado	Recuperação (%)
5,00	5,14	102,8
10,0	10,4	103,9
20,0	19,8	98,8

Observa-se que em apenas 6 min de digestão foram obtidas porcentagens de recuperação de cobre na faixa de 98,8 a 103,9%. Assim sendo, pode-se afirmar que a digestão de amostras contendo ácido húmico mostrou resultados satisfatórios para a determinação de cobre na fração dissolvida. Entretanto, a determinação do teor total de uma espécie metálica em águas naturais exige um

método de digestão mais drástico devido à presença de material particulado em suspensão. Assim sendo, a concentração de CuTR é determinada na amostra *in natura* e, conseqüentemente, na presença não apenas da matéria orgânica dissolvida, mas igualmente do material particulado em suspensão.

Os resultados obtidos para a determinação de cobre em suspensões preparadas com o solo LVd, em tempos de digestão superiores àqueles adotados para soluções contendo apenas o ácido húmico, mostraram-se satisfatórios, com percentuais de recuperação na faixa de 91,5 a 106,6%, como pode ser visto na Tabela 3.

Tabela 3. Testes de recuperação para suspensões enriquecidas com cobre ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e irradiadas durante 12 min na presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

[Cu] adicionado	Suspensões de Solo ( $\text{mg L}^{-1}$ )					
	10,0		20,0		50,0	
	[Cu] determinado	Recuperação (%)	[Cu] determinado	Recuperação (%)	[Cu] determinado	Recuperação (%)
10,0	9,84	98,4	9,58	95,8	9,93	99,3
20,0	18,2	91,5	20,8	104,1	20,4	101,9
50,0	51,4	102,8	52,1	104,2	53,3	106,6

Em amostras de águas naturais, grande parte do metal encontra-se fortemente associado à matéria orgânica, sendo que em materiais inorgânicos, tais como óxidos e argilominerais do tipo 1:1, acredita-se que o metal encontra-se preferencialmente adsorvido por forças de ligação predominantemente eletrostáticas e, portanto, dependentes do pH (Sodré *et al.*, 2001). Neste caso, a redução do pH da amostra para valores inferiores ao ponto de carga zero destes componentes é suficiente para promover a dissolução de grande parte dos metais associados à fração particulada. Assim, apenas a destruição da matéria orgânica e a redução do pH podem ser suficientes para a determinação de metais por voltametria de redissolução, tanto para a fração dissolvida, quanto para a amostra *in natura*.

Amostras de águas naturais dos rios Iraí e Iguaçu também foram analisadas com relação à recuperação de cobre. A Tabela 4 mostra os resultados obtidos para amostras coletadas em janeiro de 2002. Os parâmetros de digestão foram estabelecidos a partir dos testes de recuperação realizados em soluções contendo ácido húmico e suspensões de solo. Para a determinação do CuTR foram necessários 12 min de digestão na presença de 24 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e para a digestão da fração dissolvida foram necessários apenas 6 min com a adição de 12 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Tabela 4. Testes de recuperação para a fração dissolvida e para a amostra *in natura* de águas naturais, coletadas em janeiro de 2002, enriquecidas com cobre (µg L<sup>-1</sup>).

	Fração dissolvida <sup>†</sup>			Amostra <i>in natura</i> <sup>‡</sup>		
	[Cu] adicionado	[Cu] determinado	Recuperação (%)	[Cu] adicionado	[Cu] determinado	Recuperação (%)
Rio Iraí	0,00	3,80	-	0,00	11,2	-
	2,00	5,80	100,0	10,0	20,9	98,5
	5,00	9,17	107,4	20,0	31,5	101,9
	10,0	13,4	95,9	30,0	42,2	103,5
Rio Iguaçu	0,00	2,69	-	0,00	4,48	-
	2,00	4,67	99,0	10,0	15,1	106,3
	5,00	7,87	103,6	20,0	23,6	95,4
	10,0	12,7	100,6	30,0	34,6	100,4

<sup>†</sup> Amostras irradiadas por 6 min na presença de 12 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. <sup>‡</sup> Amostras irradiadas por 12 min na presença de 24 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Além de bons resultados com relação à recuperação de cobre (95,4 a 107,4%), na Tabela 4 é possível observar valores distintos entre os teores de cobre determinados nas frações dissolvidas e na amostra *in natura*, para ambos os rios. Os testes de recuperação de cobre mostraram resultados que possibilitam a utilização do reator fotoquímico ativado por microondas para digestão de amostras de águas naturais, sem a ocorrência de erros provenientes da adição de grandes quantidades de reagentes. Mesmo para a fração particulada, onde os componentes inorgânicos são pouco solúveis em água e são normalmente

dissolvidos por meio de processos mais drásticos (Krug, 1996), o procedimento de digestão mostrou-se eficiente.

### 3.3. Caracterização das amostras de água dos rios Iraí e Iguaçu

Entre os meses de fevereiro de 2002 e março de 2003 foram coletadas amostras representativas de dois ambientes aquáticos localizados na RMC. Conforme mostrado na Figura 9, os pontos de amostragem foram estabelecidos à montante e à jusante da cidade de Curitiba nos rios Iraí e Iguaçu, respectivamente. Desta forma, foi possível realizar uma avaliação detalhada a luz da influência da sazonalidade e do processo de urbanização sobre as características das águas destes rios. A caracterização dos corpos aquáticos em estudo, com base nas determinações de pH, alcalinidade total, COD, SST e cloreto dissolvido, pode fornecer informações relevantes à qualidade das águas, além de representar parâmetros que também influenciam a especiação e a partição do cobre em águas naturais. A Figura 21 mostra os resultados obtidos para a determinação de parâmetros aquáticos, durante período de amostragem, para ambos os rios. Os resultados são mostrados em gráficos *box-whiskers*.

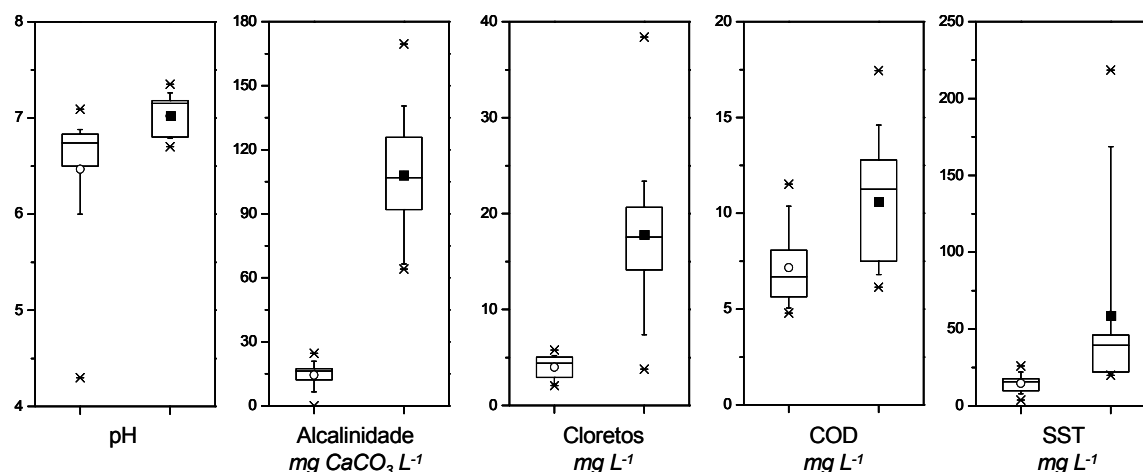


Figura 21. Parâmetros aquáticos determinados nos rios Iraí (O) e Iguaçu (■) durante o período de amostragem. As linhas horizontais da caixa representam 25, 50 (mediana) e 75% dos valores; barras de erro indicam 5 e 95%; (X) expressa 1 e 99% e (–) corresponde aos valores máximos e mínimos. A media aritmética é representada pelos símbolos O e ■

O pH variou entre 6,7 e 7,3 para o Rio Iguaçu enquanto que para o Rio Iraí foram observados valores entre 4,3 e 7,1. Acredita-se que a maior oscilação nos valores de pH observada para o Rio Iraí pode ser consequência da baixa alcalinidade associada às águas deste rio, cujos valores típicos ficaram abaixo de 25 mg de  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , em contraste com os níveis mais elevados encontrados nas águas do Rio Iguaçu, no qual a alcalinidade apresentou valores entre 64,7 e 170  $\text{mg L}^{-1}$ .

A alcalinidade é resultado da presença de hidróxidos, carbonatos e bicarbonatos, que podem provocar um efeito tampão em águas naturais (; Tchobanoglous e Burton, 1991). Níveis mais elevados para este parâmetro podem ser atribuídos a inúmeras fontes. Rochas calcáreas, por exemplo, contribuem para valores mais elevados de alcalinidade, enquanto que em regiões arenosas são encontrados valores mais baixos de alcalinidade em águas naturais (Abril e Frankignoulle, 2001). Outro aspecto importante refere-se à influência das atividades antrópicas nos níveis de alcalinidade de um corpo aquático. Alguns autores ressaltam que esta influência se dá principalmente em função do descarte de águas residuais tratadas ou não tratadas em corpos aquáticos naturais (Tchobanoglous e Burton, 1991; Verbanck *et al.*, 1994).

Valores elevados de alcalinidade podem ser consequência da decomposição de material orgânico sob condições anaeróbias (Abril e Frankignoulle, 2001). De fato, durante o período de amostragem, algumas determinações de oxigênio dissolvido demonstraram que as águas do Rio Iguaçu apresentam níveis mais baixos para este parâmetro em comparação aos valores determinados para o Rio Iraí. Os valores mais elevados de alcalinidade total nas amostras do Rio Iguaçu parecem indicar o aporte de águas residuais (esgoto) a partir da região urbanizada.

Com exceção de águas estuarinas e oceânicas e de ambientes aquáticos localizados em regiões temperadas, onde é comum a adição de sais para promover o derretimento da neve, a presença de quantidades elevadas de cloreto em águas naturais pode indicar o aporte de esgotos que são descartados diretamente nos corpos de água. As concentrações mais elevadas de cloreto

observadas para o Rio Iguaçu, em oposição aos valores obtidos no Rio Iraí, podem refletir o maior grau de impactação associado às águas deste rio. Cloreto em águas residuais tem a urina como principal fonte, uma vez que o corpo humano excreta a maior parte do cloreto que é ingerido na dieta alimentar (Guyton, 1992).

Os níveis de COD também foram sistematicamente superiores para as águas do Rio Iguaçu, quando comparados com os valores determinados para as amostras do Rio Iraí, como pode ser visto na Figura 21.

Em águas naturais a matéria orgânica dissolvida, comumente expressa em termos da concentração de carbono, é originada a partir das inter-relações entre a produção primária (fotossíntese), o metabolismo de organismos e também a partir de fontes externas, principalmente, contribuições antropogênicas (Stumm e Morgan, 1996). Rios e riachos apresentam a mais elevada taxa de produção primária além de concentrações elevadas de COD (Stumm e Morgan, 1996).

Neste estudo, ambos os rios apresentaram concentrações de COD compatíveis àquelas observadas em águas naturais continentais. Entretanto, os valores mais elevados encontrados para o Rio Iguaçu parecem ser consequência, mais uma vez, do aporte de esgotos nas águas deste rio. A influência do aporte de esgotos nos níveis de carbono orgânico em águas naturais também foi descrito por Vega e colaboradores (1998). Estes autores observaram que quantidades elevadas de amônia e COD nas águas do Rio Simancas, na Espanha, refletiram a deterioração na qualidade das águas, à jusante de um grande centro urbano, causada pelo aporte de esgoto bruto nas águas deste rio. Sabe-se ainda que regiões próximas a pontos de descarga de esgoto apresentam altíssimas taxas de produção primária (Stumm e Morgan, 1996), o que pode contribuir para o aumento nos níveis de COD quando este resíduo é descartado diretamente em corpos aquáticos.

O aporte de águas residuais pode provocar efeitos deletérios em corpos aquáticos naturais. Algumas consequências parecem ser óbvias, como o aumento dos teores de coliformes totais e fecais, alcalinidade, COD e cloreto. Outro aspecto importante decorrente do aporte de esgotos é o aumento da demanda

pelo oxigênio dissolvido. A escassez de oxigênio pode favorecer a proliferação de microorganismos anaeróbios e o desenvolvimento de ambientes anóxicos (Tchobanoglous e Burton, 1991). Sob estas condições, o corpo aquático pode apresentar odores malcheirosos característicos de espécies como sulfetos e mercaptanas. Durante praticamente todo o período de coleta as águas do Rio Iguaçu apresentaram odores característicos destas espécies, principalmente durante a estiagem, onde se observou uma diminuição significativa no nível de água deste rio. Além disso, estudos conduzidos pelo nosso grupo de pesquisa revelam que as águas do Rio Iguaçu apresentam concentrações relativamente elevadas de sulfetos solúveis e que estas espécies mostraram-se cerca de 30 vezes mais abundantes nas águas deste rio, quando comparadas às do Rio Iraí.

A determinação de oxigênio dissolvido em corpos aquáticos é uma das ferramentas mais importantes para a avaliação dos índices de qualidade de águas tendo em vista que este parâmetro está diretamente relacionado à manutenção da biota aquática (Stumm e Morgan, 1996). Em um curso de água não poluído a concentração de oxigênio dissolvido pode variar na faixa de 8 a 11 mg L<sup>-1</sup> a 25 °C. Uma variedade de organismos aquáticos passa a apresentar problemas respiratórios se o teor de oxigênio dissolvido cair para valores abaixo de 5 mg L<sup>-1</sup>, sendo que as espécies mais resistentes podem suportar até 2 mg L<sup>-1</sup>. Algumas avaliações com relação aos níveis de oxigênio dissolvido foram conduzidas durante o período de amostragem. Nas águas do Rio Iraí foram observados teores na faixa de 5 a 6 mg L<sup>-1</sup>, enquanto que no Rio Iguaçu este parâmetro apresentou valores inferiores, que variaram entre 0,5 e 1,5 mg L<sup>-1</sup>.

Na Figura 21 pode ser visto que, de uma maneira geral, existe uma grande similaridade entre os valores médios e medianos determinados para todos os parâmetros aquáticos estudados. Este comportamento só não foi evidente com relação aos teores de SST determinados nas águas do Rio Iguaçu. As concentrações de SST para este rio variaram entre 19,8 e 219 mg L<sup>-1</sup>, sendo observados picos de 168 e 219 mg L<sup>-1</sup> para as amostras coletadas em novembro de 2002 e fevereiro de 2003, como pode ser visto na Figura 22.

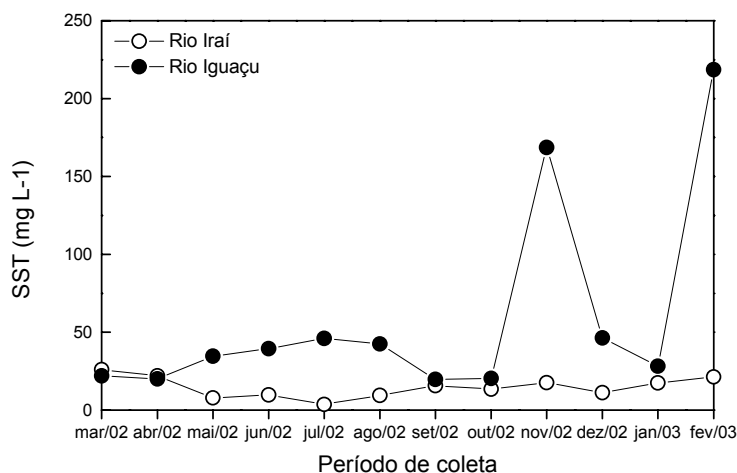


Figura 22. Teores de sólidos suspensos totais nas águas dos rios Iraí e Iguaçu durante os meses de março de 2002 a fevereiro de 2003.

Nos meses de novembro de 2002 e fevereiro de 2003 a coleta ocorreu imediatamente após um período de chuvas que contribuiu para a elevação do nível e da vazão, principalmente das águas do Rio Iguaçu. Neste caso, além do possível aporte de material particulado a partir de águas de escoamento pluvial, um aumento na vazão do rio pode provocar um aumento no tempo de residência de partículas em suspensão, como consequência da diminuição da taxa de sedimentação. Além disso, algumas obras foram conduzidas a montante do ponto de coleta no Rio Iguaçu a partir de outubro de 2002, por ocasião de uma erosão que atingiu a margem direita deste rio. Esta movimentação de terra adjacente ao ponto de amostragem pode ter contribuído para um aumento nos teores de SST nas águas do Rio Iguaçu.

Uma avaliação baseada nos parâmetros analisados, para ambos os rios, revela uma forte influência do processo de urbanização, principalmente com relação às características das águas do Rio Iguaçu. Este rio mostrou-se mais impactado, certamente como consequência das atividades antrópicas, em comparação ao Rio Iraí. A intensidade da atividade humana pode provocar uma considerável flutuação nos valores de alguns parâmetros (Perona *et al.*, 1999). Neste trabalho, este comportamento foi observado principalmente nas águas do Rio Iguaçu, onde os níveis de alcalinidade total, COD, SST e cloreto apresentaram



uma maior oscilação em comparação aos níveis determinados nas águas do Rio Iraí. A principal fonte antropogênica que parece contribuir para a deterioração da qualidade das águas do Rio Iguaçu é o aporte de esgotos bruto a partir da cidade de Curitiba. Segundo o Relatório Ambiental da RMC (COMEC, 1997), a questão de maior gravidade no quadro ambiental na área metropolitana é a poluição causada pelo descarte clandestino de esgoto doméstico. Os fatores que mais contribuíram para este quadro foram o crescimento urbano e a falta de investimento em saneamento básico, que resultaram em uma redução de cerca de 30% da capacidade de tratamento de esgotos entre 1991 e 1997. O aporte de esgotos constitui ainda uma importante fonte de metais pesados para águas naturais (Church, 1994; WHO, 1998).

### 3.4. Aporte de cobre nas águas dos rios Iraí e Iguaçu

A Figura 23 mostra a concentração de CuTR para ambos os rios durante todo o período de coleta. Esta figura também apresenta os dados referentes à precipitação acumulada mensal, registrada no período entre março de 2002 e fevereiro de 2003. Os dados de precipitação foram cedidos pelo Instituto Tecnológico Simepar.

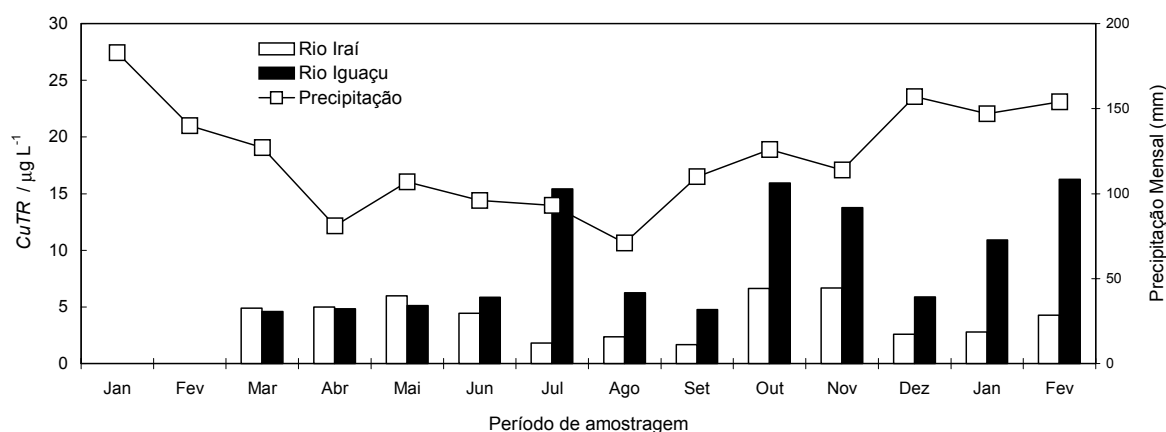


Figura 23. Concentrações de cobre total recuperável nas águas dos rios Iraí e Iguaçu entre março de 2002 e fevereiro de 2003 e dados de precipitação mensal acumulada entre janeiro de 2002 e fevereiro de 2003.

Os níveis de cobre obtidos em amostras coletadas no Rio Iraí variaram entre 1,7 e 6,7  $\mu\text{g L}^{-1}$  enquanto que no Rio Iguaçu foram observados valores superiores, que variaram entre 4,6 e 16  $\mu\text{g L}^{-1}$ , durante o período de coleta.

Os dados contidos na Figura 23 permitem observar que logo após o período de maior pluviosidade, de março até junho, não existe uma diferença significativa nas concentrações de cobre nas águas de ambos os rios. Estes resultados podem ser atribuídos à maior contribuição de fontes difusas no aporte de metais, em especial do cobre, para as águas de ambos os rios. A precipitação e o escoamento que dela resulta parecem ser as principais fontes de aporte deste metal. Segundo Davis e colaboradores (2001), a drenagem de águas durante os eventos de chuva representa uma das mais importantes fontes de poluição para corpos aquáticos superficiais, especialmente em áreas urbanizadas. Alguns estudos relatam concentrações de cobre em águas de drenagem urbana variando entre 5 e 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Prestes *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 1996; Wu *et al.*, 1998; Sansalone e Buchberger, 1997a e 1997b; Barrett *et al.*, 1998).

Durante o período de menor pluviosidade nota-se um aumento nas concentrações de cobre para o Rio Iguaçu e uma diminuição nos níveis deste metal nas águas do Rio Iraí. Níveis elevados de cobre nas águas do Rio Iguaçu, durante a estiagem, podem ser consequência do aporte de águas residuais a partir da área urbanizada nas águas deste rio. Além disso, a avaliação dos parâmetros aquáticos mostrou um maior impacto ambiental associado às águas do Rio Iguaçu em função do aporte de esgotos a partir da região mais urbanizada. Entretanto, é na estiagem que a presença desta fonte pontual torna-se mais evidente devido à diminuição das chuvas e, conseqüentemente, do nível e da vazão das águas deste rio.

Uma das principais consequências da diminuição da vazão de um corpo de água é o aumento da taxa de sedimentação. Ou seja, é esperado que os níveis de sólidos em suspensão diminuam no período de menor pluviosidade. Nas águas do Rio Iraí este comportamento foi observado, conforme mostrado na Figura 22. Entretanto, no Rio Iguaçu os níveis de SST mostraram-se superiores durante a estiagem, em comparação ao observado no período de maior pluviosidade, com

exceção dos meses de novembro de 2002 e fevereiro de 2003, nos quais a elevada concentração de SST foi possivelmente decorrente de fortes chuvas que ocorreram nos dias imediatamente anteriores à coleta. Estas características podem ser resultado da presença de quantidades elevadas de material particulado em águas residuais, que podem apresentar concentrações que variam na faixa de 100 a 350 mg L<sup>-1</sup> (Tchobanoglous e Burton, 1991).

Outra hipótese para o comportamento observado durante a estiagem é a remobilização de sedimentos de fundo presentes na região urbanizada, que são transportados para regiões à jusante do centro urbano. Este último aspecto foi relatado por Estèbe e colaboradores (1997), que avaliaram o impacto da drenagem urbana sobre as águas do Rio Sena, na cidade de Paris, França. Segundo estes autores, durante o verão a concentração de cobre, cádmio, chumbo e zinco, associada ao material particulado em suspensão, tende a aumentar como consequência do aumento de chuvas e, conseqüentemente, da drenagem urbana. Durante a estiagem, os autores observaram níveis mais baixos de metais associados às partículas em suspensão. Esta diferença foi decorrente da ressuspensão de sedimentos mais poluídos, que foram transportados à jusante do centro urbano, sendo substituídos por sedimentos menos poluídos, originados em áreas pouco afetadas pelo processo de urbanização.

No presente estudo, este aspecto pode ser empregado para explicar o comportamento observado nas águas do Rio Iraí, onde os níveis de CuTR apresentam valores inferiores durante o período de menor pluviosidade em comparação ao período de maior pluviosidade. Entretanto, para o Rio Iguaçu são observados níveis superiores de CuTR durante a estiagem, em comparação ao comportamento observado no Rio Iraí. Neste caso, acredita-se que a ressuspensão de sedimentos a partir da região urbanizada pode ter sido responsável pelo aumento nos níveis de cobre, uma vez que o ponto de coleta no Rio Iguaçu localiza-se à jusante da cidade de Curitiba e, conseqüentemente, pode receber este sedimento remobilizado a partir da região mais urbanizada. Este comportamento também foi observado por Fuchs e colaboradores (1997), que monitoraram os níveis de cobre, cádmio e chumbo associados ao sedimento de

fundo e aos sólidos em suspensão na bacia do Rio Alb, na Alemanha, em pontos localizados à montante e jusante de uma região altamente urbanizada.

Ainda na Figura 23, observa-se que com o aumento da precipitação a partir de setembro/outubro, a concentração de cobre torna-se superior em ambos os ambientes aquáticos como resultado, provavelmente, da contribuição de fontes difusas, especialmente através do escoamento superficial urbano. É novamente importante mencionar que entre os meses de outubro a dezembro foram conduzidas obras na margem direita do Rio Iguaçu. Esta movimentação de terra na região de coleta também pode ter contribuído para uma possível remobilização do cobre para as águas do Rio Iguaçu a partir dos sedimentos e/ou solos adjacentes.

### 3.5. Identificação das fontes de aporte de cobre empregando PCA

Para avaliar a influência de parâmetros químicos, físicos e meteorológicos no comportamento do cobre nas águas dos rios Iraí e Iguaçu os dados obtidos durante o período de coleta foram tratados de maneira multivariada através da análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*). Este tipo de análise pode resumir em poucas dimensões a maior parte da variabilidade de uma matriz de dados constituída por um grande número de variáveis sem, entretanto, comprometer ou alterar informações importantes (Yabe e Oliveira, 1998).

A técnica de PCA baseia-se na decomposição de uma matriz de dados a partir de combinações lineares (correlação ou covariância) sobre as variáveis originais. Neste trabalho foi empregada a co-variância da matriz para descrever a dispersão das variáveis originais e para extrair valores de *eigenvalue* e *eigenvector*, conforme é mostrado na equação 8.

$$\text{Cov}(X)p_i = \lambda_i p_i \quad (8)$$

Na Equação 8  $X$  representa uma dada matriz de dados originais,  $\lambda_i$  corresponde aos *eigenvalues* relacionados aos valores de *eigenvector* ( $p_i$ ) Na

PCA, os valores de  $p_i$ , denominados *pesos*, são obtidos pelos co-senos dos ângulos formados entre a componente principal e cada variável. Os *pesos* contêm informações relativas à inter-relação entre as variáveis originais. A forma na qual as amostras relacionam-se entre si é dada por vetores denominados *escores*, que correspondem às projeções das amostras na direção da componente principal.

Vários estudos empregam a análise de componentes principais para elucidar os processos dinâmicos que ocorrem em águas naturais. As informações obtidas a partir da análise multivariada permitem identificar rios com diferentes características (Vega *et al.*, 1998; Perona *et al.*, 1999), monitorar mudanças sazonais e espaciais dentro de um sistema aquático (Perona *et al.*, 1999; Petersen *et al.*, 2001; Bengraïne e Marhaba, 2003), avaliar a dinâmica de espécies presentes em águas naturais (Perona *et al.*, 1999; Morales *et al.*, 1999), verificar as principais fontes e tipos de poluição (Vega *et al.*, 1998; Perona *et al.*, 1999; Morales *et al.*, 1999; Wunderlin *et al.*, 2001; Bengraïne e Marhaba, 2003), entre outras possibilidades.

Neste trabalho, a análise de componentes principais foi utilizada para avaliar variações sazonais nos níveis de cobre e, ao mesmo tempo, identificar as fontes de aporte deste metal para as águas dos rios Iraí e Iguaçu. Os parâmetros utilizados para a análise de componentes principais são mostradas na Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros utilizados na análise de componentes principais.

Parâmetros (Variáveis)	Abreviatura	Unidade
pH	pH	-
Alcalinidade total	Alc	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>
Carbono orgânico dissolvido	COD	mg L <sup>-1</sup>
Sólidos suspensos totais	SST	mg L <sup>-1</sup>
Cloreto dissolvido	Cl	mg L <sup>-1</sup>
Cobre total recuperável	CuTR	µg L <sup>-1</sup>
Temperatura	T	°C
Precipitação acumulada	ppt	mm

A partir dos parâmetros mostrados na Tabela 5, foi construída uma matriz de dados de dimensão 8x24, que corresponde aos oito parâmetros e seus respectivos valores obtidos para amostras dos rios Iraí e Iguaçu durante os doze meses de coleta. Os dados originais foram autoescalados e utilizados para gerar o modelo de regressão multivariada. A Tabela 6 mostra *eigenvalues*, a porcentagem de variância capturada para cada uma das oito componentes principais fornecidas e a variância total capturada na análise de PCA.

Tabela 6. Variância capturada, em termos percentuais, para cada componente principal durante a análise multivariada.

Número da CP	<i>Eigenvalues</i> para a matriz Cov(X)	Variância capturada por cada CP (%)	Variância total (%)
1	3,210	40,11	40,11
2	1,770	22,08	62,19
3	1,160	14,45	76,63
4	1,020	12,74	89,37
5	0,340	4,25	93,61
6	0,258	3,23	96,84
7	0,175	2,18	99,02
8	0,078	0,98	100,00

As duas primeiras componentes principais foram suficientes para explicar mais de 62% da variância total dos dados, sendo que apenas a primeira componente foi responsável pela captura de cerca de 40% da variância. Perona e colaboradores (1999) avaliaram a qualidade de águas naturais empregando PCA e utilizaram três componentes principais para capturar variâncias de 69 e 62% em dois experimentos utilizando somente amostras de um corpo aquático. Considerando a complexidade de sistemas naturais, nos quais os valores dos parâmetros avaliados apresentam uma grande variabilidade em função de aspectos como clima, atividades antrópicas e naturais, o fato de apenas duas componentes principais explicarem mais de 62% da variância dos dados representa um resultado satisfatório.

Devido à variabilidade dos dados originais, o critério adotado para definir a quantidade de componentes principais a ser mantida para a condução da PCA baseou-se na detecção das principais fontes de variação que, neste trabalho, ficou concentrada nas duas primeiras componentes principais.

Para se avaliar como os parâmetros correlacionam-se com as duas primeiras componentes principais a Figura 24 mostra os coeficientes de correlação obtidos para cada CP em função dos valores dos *pesos*.

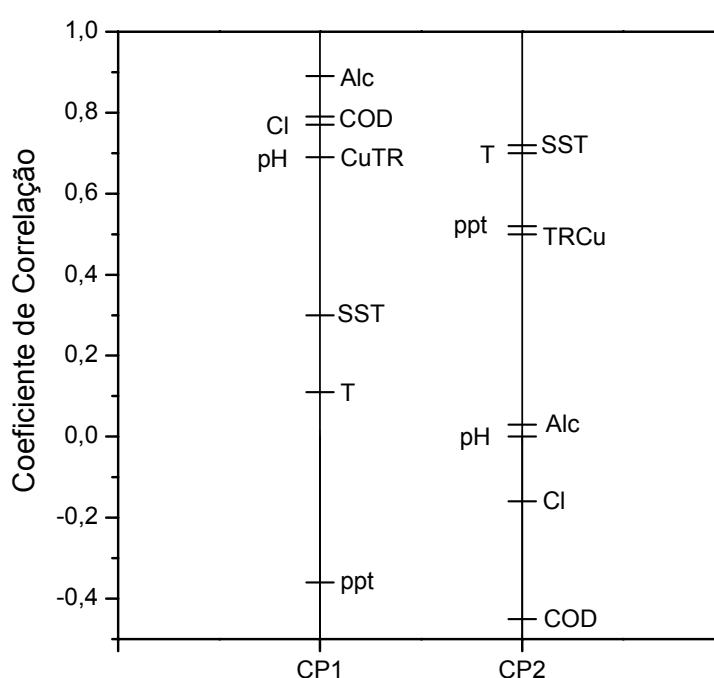
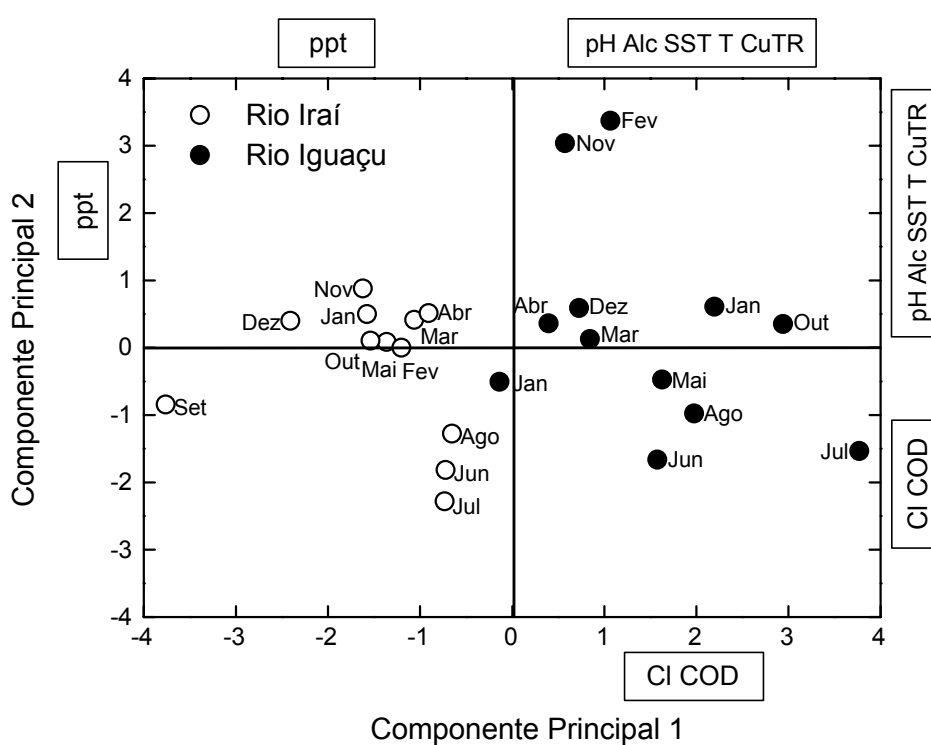


Figura 24. Coeficientes de correlação entre as componentes principais 1 e 2 e os valores dos *pesos*

A partir da Figura 24 pode-se observar que a primeira componente principal correlaciona-se com parâmetros que, em conjunto, determinam o grau de poluição de um corpo aquático natural, ou seja, alcalinidade total, cloretos e carbono orgânico dissolvido. Para esta componente principal nota-se também um elevado coeficiente de correlação para a concentração de cobre total recuperável. A segunda componente principal apresenta coeficientes de correlação elevados

para parâmetros relativos à sazonalidade, ou seja, temperatura e precipitação, além dos teores de sólidos em suspensão e CuTR.



A partir dos dados contidos na Figura 25 é possível observar que apenas a primeira componente principal foi responsável pela separação das amostras coletadas no Rio Iguaçu, à direita do gráfico, e no Rio Iraí, à esquerda. Nota-se que parâmetros relacionados ao grau de impactação de um corpo aquático, como



alcalinidade total, cloreto, COD e SST, encontram-se associados às águas do Rio Iguaçu. Foi visto na Seção 3.3 que valores elevados associados a estes parâmetros podem ser consequência do aporte de esgotos em águas naturais, sendo que cloreto e COD evidenciam melhor esta possibilidade (Tchobanoglous e Burton, 1991, Vega *et al.*, 1998;). Além disso, observa-se a presença de cobre relacionado a estes parâmetros e, conseqüentemente, às águas do Rio Iguaçu. Neste rio, de fato, foram observados valores de concentração superiores para o cobre em praticamente todo o período de coleta. No caso do Rio Iraí, esta relação parece ser menos óbvia.

A segunda componente principal, que explicou cerca de 22% da variabilidade, foi responsável pela separação sazonal das amostras de ambos os rios. Pode-se notar que, para ambos os rios, os dados referentes ao período de menor pluviosidade, ou seja, aos meses de junho, julho e agosto, encontram-se abaixo da linha correspondente a segunda componente principal, que divide horizontalmente o gráfico em duas partes. Este comportamento indica que os parâmetros ppt e T relacionam-se diretamente com o período de maior pluviosidade. Considerando que os locais de amostragem se encontram sob clima subtropical, no qual temperaturas elevadas são comuns durante o período chuvoso, é esperado que a precipitação e, até certo ponto, a temperatura, estejam relacionados a este período.

Observa-se ainda que CuTR e SST também se correlacionam com o período de maior pluviosidade. Deste modo, surgem evidências da contribuição de fontes difusas de poluição para as águas de ambos os rios no período de chuvas. Como já foi mencionado, a chuva e o escoamento que dela resulta exercem um papel fundamental no aporte de metais em ambientes aquáticos naturais (Davis *et al.*, 2001). A presença de SST associada a este período parece indicar que o aporte de cobre também pode estar relacionado à presença de sólidos em suspensão em águas de escoamento superficial. De fato, alguns autores relatam que nas águas drenagem o cobre pode ser encontrado fortemente associado ao material particulado em suspensão (Sansalone e Buchberger, 1997b). Além disso, estudos desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa evidenciam a presença de

elevadas quantidades de sólidos em suspensão em águas de escoamento superficial coletadas nas ruas da cidade de Curitiba (Prestes *et al.*, 2005). Nestas águas, o cobre encontra-se preferencialmente associado ao material particulado, em níveis entre 50 e 60%, enquanto que o restante está presente na fração dissolvida. Ainda com relação à variabilidade explicada pela segunda componente principal, observa-se que os principais parâmetros associados ao período de menor pluviosidade são COD e cloreto, principalmente para as amostras do Rio Iguaçu, que se encontram no quadrante inferior direito na Figura 25. Esta distribuição espacial confirma a hipótese de que no período de menor pluviosidade o aporte de esgoto nas águas do Rio Iguaçu deve contribuir para a elevação nos níveis de cobre nas águas deste rio.

De uma maneira geral, a análise de componentes principais evidenciou que no período de maior pluviosidade, fontes de poluição difusa exerceram um papel fundamental para o aporte de cobre, enquanto que durante o período de menor pluviosidade fontes pontuais mostraram-se mais importantes para o aporte deste metal, principalmente nas águas do Rio Iguaçu, devido ao aporte de esgotos.

### **3.6. Especiação química do cobre**

A implantação de um protocolo de especiação do cobre em amostras em águas naturais exige a definição de uma técnica analítica que permita a identificação e a quantificação de espécies lábeis na amostra. Dentre as técnicas descritas na literatura destacam-se aquelas baseadas na voltametria de redissolução, que podem fornecer dados quantitativos com excelentes limites de detecção, elevada sensibilidade analítica, (Bruland *et al.*, 2000) e boa correlação com a disponibilidade biológica do metal (Xue e Sigg, 1998).

Neste trabalho, a especiação do cobre foi realizada por voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial e utilização de etilenodiamina (EN) como ligante de competição. Segundo Scarano e colaboradores (1992) o uso de EN promove um aumento na sensibilidade da medida voltamétrica devido às propriedades eletroativas do complexo CuEN.

Para se avaliar as vantagens da utilização da etilenodiamina para a detecção de cobre por VRA foram conduzidas determinações deste metal em água Milli-Q. A Figura 26 apresenta dois voltamogramas obtidos na presença e ausência de EN  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ .

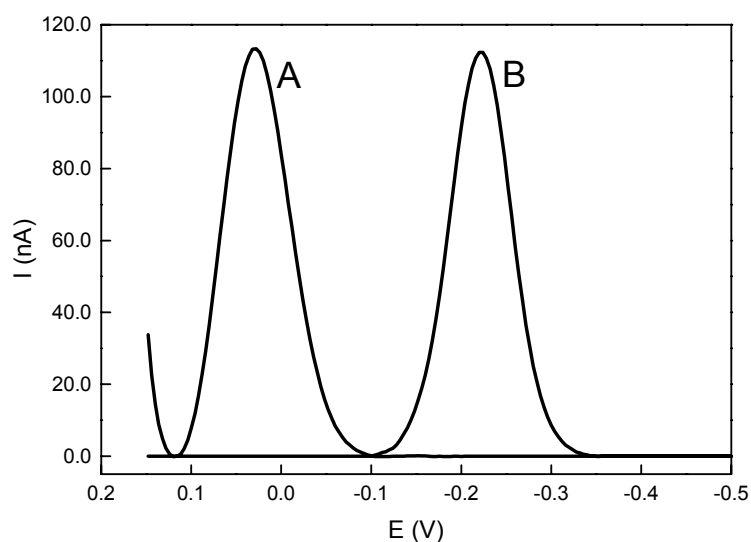


Figura 26. Voltamogramas obtidos para detecção de cobre por VRA em água Milli-Q. (A)  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de cobre (pH 2). (B)  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  de cobre,  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de EN em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  KCl.

Os voltamogramas mostrados na Figura 26 foram determinados sob parâmetros experimentais idênticos: tempo de eletrodeposição, potencial de eletrodeposição, velocidade de varredura, agitação, tamanho de gota de mercúrio e amplitude do pulso. O voltamograma A foi obtido em meio ácido (pH 2) para uma solução contendo  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de cobre. O voltamograma B foi determinado em meio contendo etilenodiamina  $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e cobre a  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ . O altura dos picos, obtidos pelo ajuste das linhas base, são praticamente iguais. Porém a concentração de metal para a amostra determinada em meio ácido é 4 vezes maior que aquela determinada em etilenodiamina. Desta forma, pode-se concluir que a adição de EN à amostra proporcionou uma sensibilidade analítica quatro vezes maior que o método conduzido em meio ácido. O deslocamento do pico para valores mais

catódicos também pôde ser observado neste experimento. O potencial de redissolução do complexo CuEN é um pouco mais distante daquele em que normalmente é observada a redissolução do cobre em meio ácido, ou seja, de 0 a -0,1 V. O deslocamento do potencial de redissolução do cobre quando se emprega etilenodiamina também representa uma vantagem ao se trabalhar com soluções contendo traços de oxigênio dissolvido, uma vez que a presença de O<sub>2</sub> na amostra dá origem a um par de ondas polarográficas intensas resultantes da redução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, em -0,9 V, e O<sub>2</sub> em -0,1 V (Harris, 2000). Além disso, resultados melhores são obtidos em eletrodo de gota de mercúrio de gota pendente, empregado neste trabalho, em comparação à utilização de eletrodo de disco rotatório com filme de mercúrio (EFM) (Scarano *et al.*, 1991).

A determinação de CuTD também pode ser feita em meio contendo EN através do método de adição de padrões. A Figura 27 mostra os voltamogramas e a curva de adição de padrão obtida para a determinação do CuTD na presença de EN em uma amostra coletada no Rio Iraí em março de 2002.

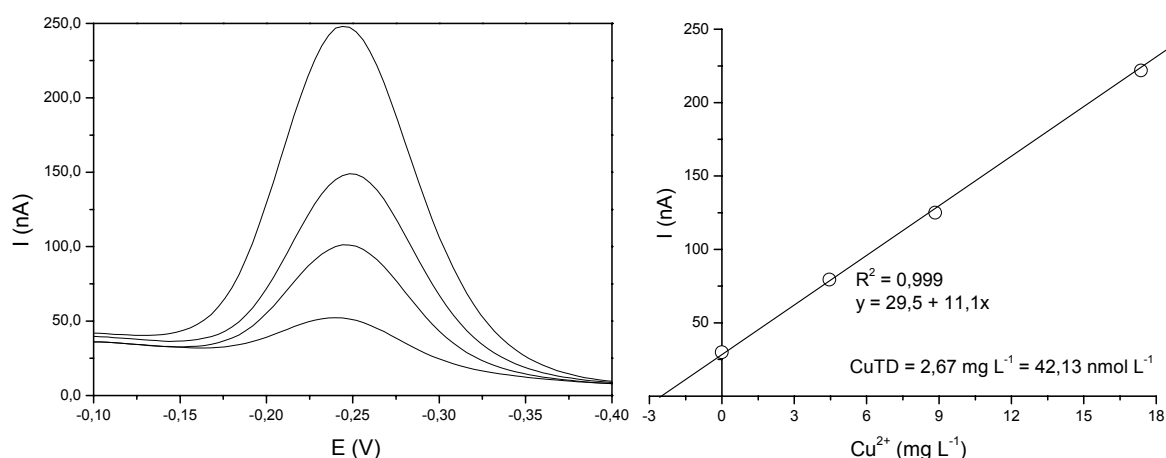


Figura 27. Determinação do CuTD por VRA em uma amostra do Rio Iraí utilizando EN  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> (pH 8). Parâmetros utilizados: I: 0,1 mol L<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub>; E<sub>dep</sub>: -0,6 V (vs Ag/AgCl); t<sub>dep</sub>: 900 s; ΔE: 50 mV; v: 4 mV s<sup>-1</sup>.

A determinação de cobre lábil ocorre na fração dissolvida com a amostra em seu pH natural. Deve-se ter cuidado para que não sejam feitas alterações da alíquota em que se deseja determinar a fração lábil do cobre. O tempo de eletrodeposição deve ser o mesmo no qual foi determinado o teor de CuTD. A adição de EN segundos antes do término da etapa de eletrodeposição é necessária apenas para que a relação  $I^0/I^{max}$  ocorra sob uma mesma matriz.

Na Figura 28 observa-se que os voltamogramas obtidos para  $I^0$  e  $I^{max}$  são ajustados em suas respectivas linhas bases em um programa computacional adequado para obter o valor do cobre lábil. O valor obtido pela razão  $I^0/I^{max}$  é multiplicado à concentração do CuTD determinada pelo método de adição padrão. O produto desta multiplicação fornece a concentração do cobre lábil no meio.

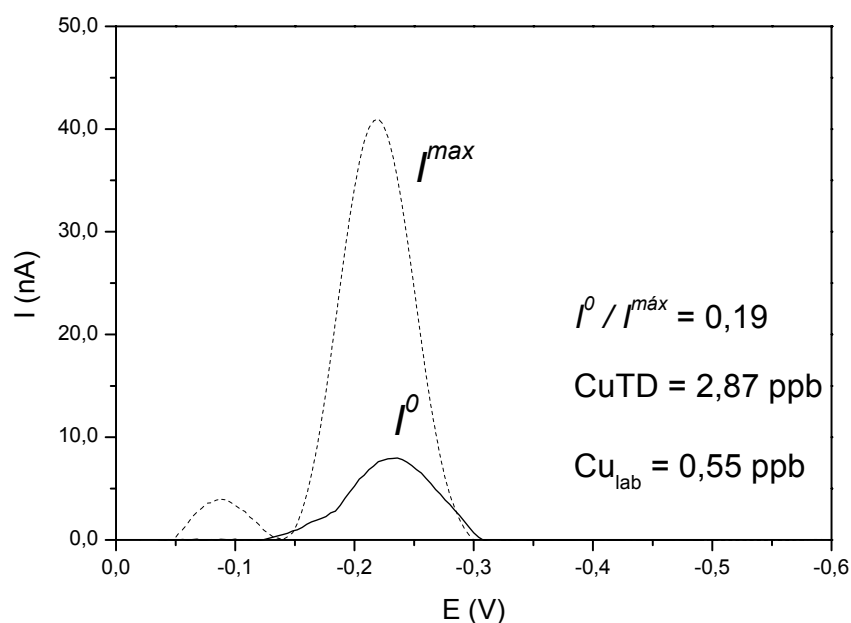


Figura 28. Representação gráfica para a determinação de cobre lábil em amostras de águas naturais através da razão  $I^0/I^{max}$ .

Os resultados obtidos para a especiação do cobre nas águas dos rios Iraí e Iguaçu, em termos de valores mínimos e máximos, médios e medianos, encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7. Valores de concentração de cobre, em  $\mu\text{g L}^{-1}$ , e distribuição deste metal entre as frações particulada, dissolvida e lábil, nas águas dos rios Iraí e Iguaçu.

		CuTR	CuTD	Cu <sub>p</sub>	CuL	Cu <sub>lab</sub>
	mín - máx	1,68 – 6,68	1,10 – 3,47	0,58 – 3,21	0,59 – 3,21	0,13 – 1,27
Rio Iraí	média	4,10	2,19	1,90 (44)	1,72 (43)	0,47(13)
	mediana	4,36	2,17	2,20 (50)	1,82 (42)	0,35 (8)
	mín - máx	4,60 – 16,3	2,08 – 6,55	2,25 – 10,4	1,45 – 5,66	0,20 – 1,19
Rio Iguaçu	média	9,17	3,66	5,51 (58)	3,04 (34)	0,62 (8)
	mediana	6,25	2,87	3,39 (54)	2,33 (37)	0,54 (9)

CuTR – cobre total recuperável; CuTD – cobre total dissolvido; Cu<sub>p</sub> – cobre na fração particulada; CuL – Cobre complexado na fração dissolvida; Cu<sub>lab</sub> – cobre lábil. Valores entre parênteses correspondem às concentrações em termos percentuais para cada fração.

O teor de cobre na fração particulada (Cu<sub>p</sub>) corresponde à diferença entre CuTR e CuTD, o cobre complexado na fração dissolvida (CuL) foi calculado pela diferença entre CuTD e Cu<sub>lab</sub>. Os valores entre parênteses expressam as concentrações relativas em termos percentuais.

Neste trabalho, as águas do Rio Iguaçu sempre apresentaram concentrações superiores de cobre total recuperável e cobre total dissolvido em comparação aos níveis observados para o Rio Iraí. Os níveis de CuTR variaram entre 4,60 e 16,3  $\mu\text{g L}^{-1}$  e os de CuTD entre 2,08 e 6,55  $\mu\text{g L}^{-1}$  para as águas do Rio Iguaçu. No Rio Iraí os níveis mínimos e máximos de CuTR e CuTD foram de 1,68 a 6,68 e 1,10 a 3,47  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Apesar de grandes diferenças com relação ao conteúdo total de cobre entre os dois rios, observa-se que na fração lábil os teores mínimos e máximos mostraram-se bastante similares, 0,13 a 1,27  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o Rio Iraí e 0,20 a 1,19  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o Rio Iguaçu. Na realidade, este comportamento reflete a ocorrência de níveis superiores de COD e SST para o Rio Iguaçu, que conferem maior quantidade de sítios complexantes e adsorventes. Mesmo apresentando níveis superiores de CuTR, a presença de agentes complexantes no meio faz com que o Rio Iguaçu apresente concentrações de cobre lábil semelhantes àsquelas observadas para o Rio Iraí.

A concentração do metal presente na forma lábil é responsável pelo controle da biodisponibilidade do mesmo frente à biota aquática (Brown e Markich,

2000). Entretanto, a avaliação dos efeitos de uma espécie metálica para a biota não deve ser feita somente com base na determinação do teor do metal na fração lábil. Vários aspectos devem ser levados em consideração, principalmente no que se refere ao comportamento dinâmico do metal entre as frações particulada, dissolvida e lábil. No Rio Iguaçu, por exemplo, grande parte do cobre está associada a agentes complexantes devido às concentrações mais elevadas de COD e SST. Apesar disso, não é adequado concluir que a presença de concentrações elevadas de COD e SST são benéficas ao corpo de água, mesmo que a concentração de cobre lábil neste rio for menor. Neste caso, ao se avaliar as características de um corpo de água deve-se levar em consideração a situação do ambiente como um todo. No caso específico do Rio Iguaçu, os níveis mais elevados de COD e SST à jusante da cidade de Curitiba surgem a partir fontes pontuais e difusas, como consequência do aporte de esgoto e águas de drenagem urbana.

Na Tabela 7 também são apresentados os teores de cobre, em termos percentuais, no material particulado e junto aos agentes complexantes presentes na fração dissolvida. Tomando-se como base os valores médios de  $Cu_p$  e  $Cu_L$  para ambos os rios pode-se observar que apenas 44% do cobre se encontra associado ao material particulado nas águas do Rio Iraí, e cerca de 58% para o Rio Iguaçu. Este comportamento reflete a preferência do cobre em se manter complexado na fração dissolvida nas águas do Rio Iraí enquanto que no Rio Iguaçu o comportamento do metal é controlado pelos processos de adsorção junto ao material particulado.

Stiff (1971) e Windom e colaboradores (1991), por exemplo, relatam que até 70% do cobre total presente em águas naturais apresentara-se na fração particulada. Apesar da conhecida afinidade do cobre por ligantes orgânicos dissolvidos (Gundersen e Steinnes, 2003), o material particulado pode conter substâncias reativas tais como argilas do tipo 2:1 e oxi-hidróxidos de ferro e alumínio. Também é bastante comum a ocorrência de partículas orgânicas bióticas ou abióticas, além de partículas inorgânicas recobertas por matéria orgânica.

Segundo Stumm (1992) e Zachara e colaboradores (1994) substâncias húmicas de peso molecular elevado são preferencialmente adsorvidas nas superfícies dos minerais em comparação aos demais compostos presentes na matéria orgânica dissolvida, que são menos aromáticos e possuem pesos moleculares menores. Peart e Walling (1986) avaliaram as características do material particulado na Bacia do Rio Devon na Inglaterra e evidenciaram que o enriquecimento das partículas em suspensão com matéria orgânica foi responsável pela remoção de vários elementos da coluna de água.

A presença de material orgânico em partículas de ambos os rios foi avaliada a partir de análises de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) para amostras coletadas em todas as campanhas de amostragem. A Figura 29 mostra espectros de RPE típicos obtidos para amostras de material sólido representativo dos rios Iraí e Iguaçu.

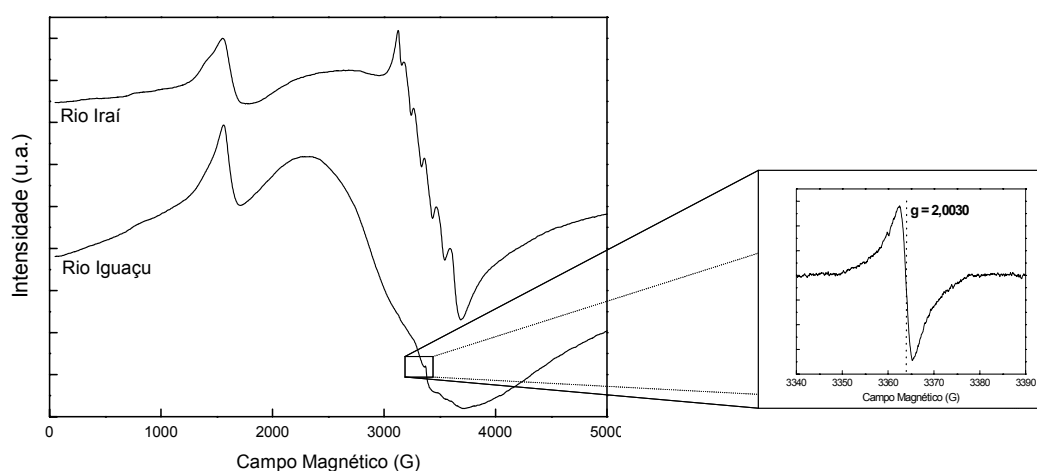


Figura 29. Espectros de RPE para o material particulado dos rios Iraí e Iguaçu. No detalhe, a linha de ressonância de radical livre orgânico em  $g = 2,0038$ .

Pode-se observar que ambos os espectros de ressonância mostrados na Figura 29 apresentam linhas características de ferro em domínios diluídos em 1500 Gauss, e em domínios concentrados, em 3300 Gauss. Para a amostra do Rio Iraí, observam-se também seis linhas equidistantes localizadas em 3500 Gauss, que são características da presença de  $Mn^{2+}$ . No gráfico mostrado em detalhe, nota-se a presença de radical livre orgânico (RLO) apenas para a amostra



do Rio Iguaçu. Este tipo de radical livre surge a partir da ocorrência de ressonância eletrônica em funções quinonas, semi-quinonas ou ainda em grupos do tipo semi-quinônicos conjugados a sistemas aromáticos (Senesi, 1990b). Em amostras naturais, linhas de ressonância com valores de  $g$  que variam entre 2,0018 e 2,0051 têm sido atribuídas à presença de matéria orgânica humificada (Kotzias e Beyerle-Pfnür, 1989; Barančíková *et al.*, 1997; Chen *et al.*, 2002).

Krusche e colaboradores (2001) evidenciaram o aumento de carbono orgânico particulado nas águas do Rio Piracicaba, em São Paulo, devido, principalmente, ao aporte de esgoto industrial e doméstico ricos em matéria orgânica nas águas deste rio. Desta forma, acredita-se que presença de matéria orgânica particulada rica em substâncias húmicas nas amostras do Rio Iguaçu pode ser resultado do aporte de esgotos a partir da região urbanizada. Este tipo de enriquecimento pode, portanto, conferir uma maior reatividade a este material e, conseqüentemente, promover uma maior complexação do cobre.

A avaliação da distribuição do cobre em ambos os rios também foi realizada empregando-se dados relativos à especiação do metal, conforme mostra a Figura 30, para todo o período de coleta de amostras.

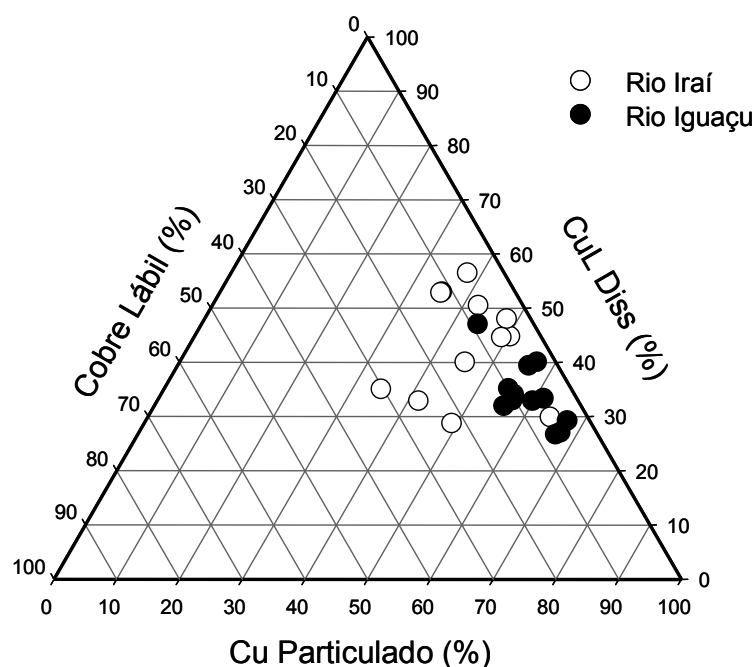


Figura 30. Concentração relativa de cobre nas frações particulada, complexada dissolvida e lábil para as amostras coletadas nos rios Iraí e Iguaçu.

A Figura 30 permite observar uma diferença significativa quando são comparados os comportamentos do cobre nos dois rios. Durante praticamente todo o período de coleta, níveis mais elevados de cobre foram determinados junto ao material particulado nas amostras do Rio Iguaçu, devido às características do material particulado presente neste rio.

Shi e colaboradores 1998 demonstraram que a adsorção do cobre está diretamente relacionada com o conteúdo de matéria orgânica particulada. Grassi e colaboradores (2000) estudaram a adsorção do cobre utilizando óxido de alumínio cuja superfície havia sido recoberta com quantidades diferentes de ácido húmico e concluíram que a adsorção do cobre é maior com o aumento das concentrações de carbono orgânico particulado.

Na Figura 30 nota-se que a concentração relativa de cobre lábil para ambos os rios foi de, aproximadamente, 10%. Entretanto em alguns meses, as águas do Rio Iraí apresentaram níveis de cobre lábil de até 30% em relação ao teor de CuTR. Neste caso, a amostra contendo a maior concentração relativa de cobre na forma lábil também apresentou o menor valor de pH determinado neste rio, que foi de 4,5.

Gundersen e Steinnes (2003) avaliaram a influência do pH na especiação de cobre, cádmio, zinco e alumínio em águas naturais. Para amostras com pH em torno de sete, as quantidades de cobre associadas ao material particulado, incluindo a fração coloidal, atingiam cerca de 50-60% do teor total do metal. Em ambientes mais ácidos, com pH variando entre 3 e 6, menos de 10% do total do cobre encontrava-se associado ao material particulado. O restante, cerca de 90%, encontrava-se presente na fração dissolvida. Um aumento na concentração de íons hidrogênio pode favorecê-los na competição com íons  $\text{Cu}^{2+}$  pelos sítios de ligação disponíveis tanto na fração dissolvida (Muller, 1996) quanto no material particulado (Shi *et al.* 1998). Ao considerar que em águas naturais a concentração de cobre encontra-se na faixa de  $\text{nmol L}^{-1}$ , o deslocamento do pH para valores próximos de 3, por exemplo, resulta em níveis de  $\text{H}^+$  superiores às do metal em seis ordens de grandeza. O Rio Iraí sempre apresentou valores inferiores de pH em comparação ao comportamento observado no Rio Iguaçu. Neste caso

acredita-se existir uma forte influência do pH na especiação do cobre nos rios estudados.

Segundo Tipping e Cooke (1982) *apud* Shi e colaboradores (1998) o pH é um dos mais importantes fatores que controlam a adsorção do metal no material particulado em suspensão. Em um pH neutro, a adsorção de metais é favorecida, pois nesta faixa de pH as superfícies dos minerais encontram-se negativamente carregadas. Desta forma, a diminuição do pH para um valor abaixo do pH do ponto de carga zero do material particulado (equilíbrio entre as cargas), pode contribuir para uma diminuição da adsorção do metal. Este efeito também pode ser responsável pela preferência do cobre em permanecer na fração dissolvida nas águas do Rio Iraí. Isto pode ocorrer, pois os valores de  $pH_{PCZ}$  para muitos minerais, tais como oxi-hidróxidos de ferro, variam entre 6,1 e 8,5 (Sparks, 1995). No caso do Rio Iguaçu, este fenômeno não deve ser tão importante uma vez que o material particulado deste rio encontra-se recoberto por substâncias húmicas de elevado peso molecular que, geralmente, apresentam  $pH_{PCZ}$  menor que 2 (Sparks, 1995). Na fase solúvel, que teoricamente é mais abundante em termos de matéria orgânica dissolvida, acredita-se a competição entre o metal e íons hidrogênio foi o principal fenômeno responsável pelo aumento na concentração relativa de cobre lábil, principalmente, nas águas do Rio Iraí.

A avaliação do grau de associação de metais junto ao material particulado e a presença do mesmo na fração dissolvida também pode ser feita em termos do coeficiente de partição,  $K_D$ , representado por

$$K_D = \frac{c_p}{c_d} \quad (9)$$

Na equação 9,  $c_p$  é a concentração do metal no material particulado, em  $mg\ kg^{-1}$  e  $c_d$  é a concentração do metal na fração dissolvida, em  $\mu g\ L^{-1}$ . Portanto a unidade de  $K_D$  é  $L\ kg^{-1}$ .

A Figura 31 mostra a variação dos valores de  $\log K_D$  em função do teor de sólidos suspensos para amostras dos rios Iraí e Iguaçu.

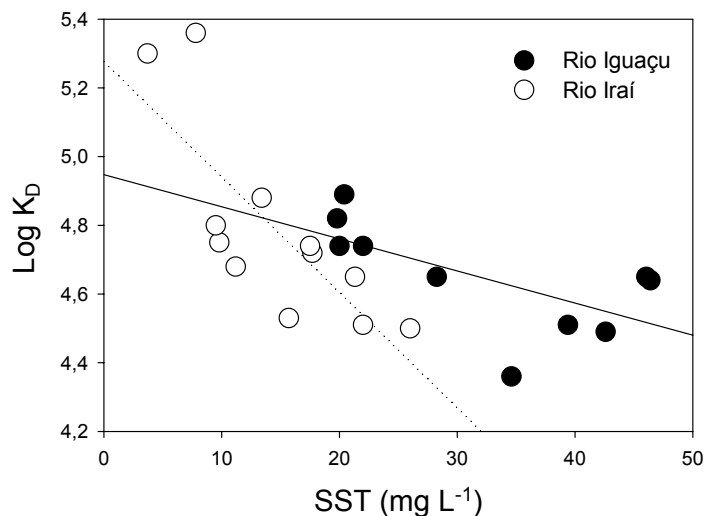


Figura 31. Coeficientes de partição do cobre ( $K_D$ ) em função dos teores de sólidos suspensos totais para o cobre presente nas águas dos rios Iraí e Iguaçu.

Na Figura 31, pode ser observado que os valores de  $\text{Log } K_D$  variam na faixa de 4,4 a 5,0 para ambos os rios, com exceção de dois valores que se mostraram mais elevados para o Rio Iraí, com coeficientes de partição, em termos logarítmicos, em torno de 5,3. Pode-se observar também que, para ambos os rios, os valores de  $\text{Log } K_D$  diminuem em função do aumento da concentração de sólidos em suspensão. A princípio, este comportamento pode parecer anômalo, afinal seria esperado que um aumento nos níveis de sólidos em suspensão provocasse uma maior associação do cobre ao material particulado. Entretanto, o comportamento observado neste trabalho também tem sido relatado em estudos que abordam a temática da partição de metais em ambientes aquáticos (Grassi *et al.*, 2000).

O comportamento evidenciado na Figura 31 pode ocorrer pelo enriquecimento de cobre nas partículas sob concentrações baixas de sólidos em suspensão, e pela diminuição relativa da concentração de metal no material particulado sob concentrações mais elevadas de SST. Além disso, este comportamento também tem sido atribuído ao efeito de concentração de partículas (ECP) que é explicado pela ocorrência de cobre associado a partículas coloidais presentes na fração dissolvida (Benoit *et al.*, 1994; Martin *et al.*, 1995).

Considerando que a separação entre as frações particulada e dissolvida de componentes presentes em águas naturais baseia-se em uma definição de caráter operacional, ou seja, a partir da filtração da amostra em uma membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade, ela está sujeita a limitações. De fato, colóides apresentam características típicas de materiais sólidos, porém permeiam pela membrana de filtração, sendo finalmente contabilizados na fração dissolvida (Harris, 1977; Eisma *et al.*, 1980).

Benoit e Rozan (1999) avaliaram a influência do tamanho das partículas na partição de metais em águas superficiais e observaram que a uma grande fração do metal encontrava-se associada aos colóides e que a proporção de metal nos colóides aumentava em função do aumento do teor de SST. Neste mesmo trabalho, obtiveram uma relação constante entre  $K_D$  e SST ao eliminar partículas de tamanho elevado que contribuem pouco para a concentração de sítios de complexação.

É interessante observar que nas águas do Rio Iraí existe um decréscimo mais acentuado nos valores de  $\text{Log } K_D$  quando o teor de sólidos em suspensão aumenta, em oposição ao comportamento observado para o Rio Iguaçu. Com base neste comportamento, o Rio Iraí parece conter níveis mais elevados de material coloidal que passa pela membrana de filtração e, conseqüentemente, de cobre associado a este material coloidal. Para o Rio Iguaçu, a menor atenuação dos dados pode ser conseqüência da presença de matéria orgânica particulada que provoca a permanência do metal adsorvido/complexado à fase sólida. Além disso, durante o período de coleta, as amostras do Rio Iguaçu sempre apresentaram partículas com características diferentes, evidenciando quantidades elevadas de sólidos mais grosseiros.

No caso do Rio Iguaçu, pode ser observado a partir dos dados contidos na Tabela 7 que cerca de 58%, em média, do CuTR encontra-se associado ao material particulado, enquanto que para o Rio Iraí a quantidade de metal associado às partículas em suspensão foi de apenas 44%, em média. Sabe-se que a taxa de sedimentação do material particulado em corpos aquáticos naturais depende, entre outros fatores, do tamanho e densidade das partículas. Nas águas

do Rio Iguaçu foram encontrados materiais particulados em suspensão com características mais grosseiras, enquanto que no Rio Iraí foram detectadas maiores quantidades de material coloidal. Com base nestes aspectos é possível que a remoção do metal a partir da coluna de água por sedimentação ocorra de forma mais acentuada para o Rio Iguaçu, ao contrário do comportamento observado para o Rio Iraí. Neste Rio, a presença de maiores quantidades de cobre na fração dissolvida, cerca de 56%, e a ocorrência de colóides em concentrações mais elevadas, podem favorecer a permanência do cobre por mais tempo na coluna de água.

### **3.7. Capacidade de complexação dos rios frente ao cobre**

A avaliação da capacidade de complexação das águas dos rios Iraí e Iguaçu frente ao cobre foi conduzida através de titulações potenciométricas e aplicação do modelo de Scatchard (1949) que fornece valores para concentração total de ligantes, aqui expressa como  $[L]_{total}$ , e constantes de estabilidades condicionais para até dois sítios de complexação.

Nas curvas de titulação, a curva guia é usada como referência e representa uma situação onde a concentração do íon livre em solução, representado por  $[Cu]$ , será igual à concentração total de cobre adicionado,  $[Cu]_T$ , pois neste caso não existem ligantes capazes de complexar o metal:

$$[Cu] = [Cu]_T \quad (10)$$

Em uma amostra de água natural, ligantes orgânicos e inorgânicos podem complexar o íon livre em solução, fazendo com que apenas uma fração do teor total do cobre permaneça na forma livre, enquanto que o restante será complexado. Desta forma, a concentração do íon livre será expressa por:

$$[Cu] = [Cu]_T - [CuL] \quad (11)$$

onde [CuL] representa a concentração de cobre associado aos ligantes presentes na amostra.

Curvas de titulação típicas obtidas para os rios Iguaçu e Iraí, para amostras dissolvida e *in natura*, respectivamente, são apresentadas nas Figuras 32 e 33. Os gráficos de Scatchard são apresentados nas mesmas figuras.

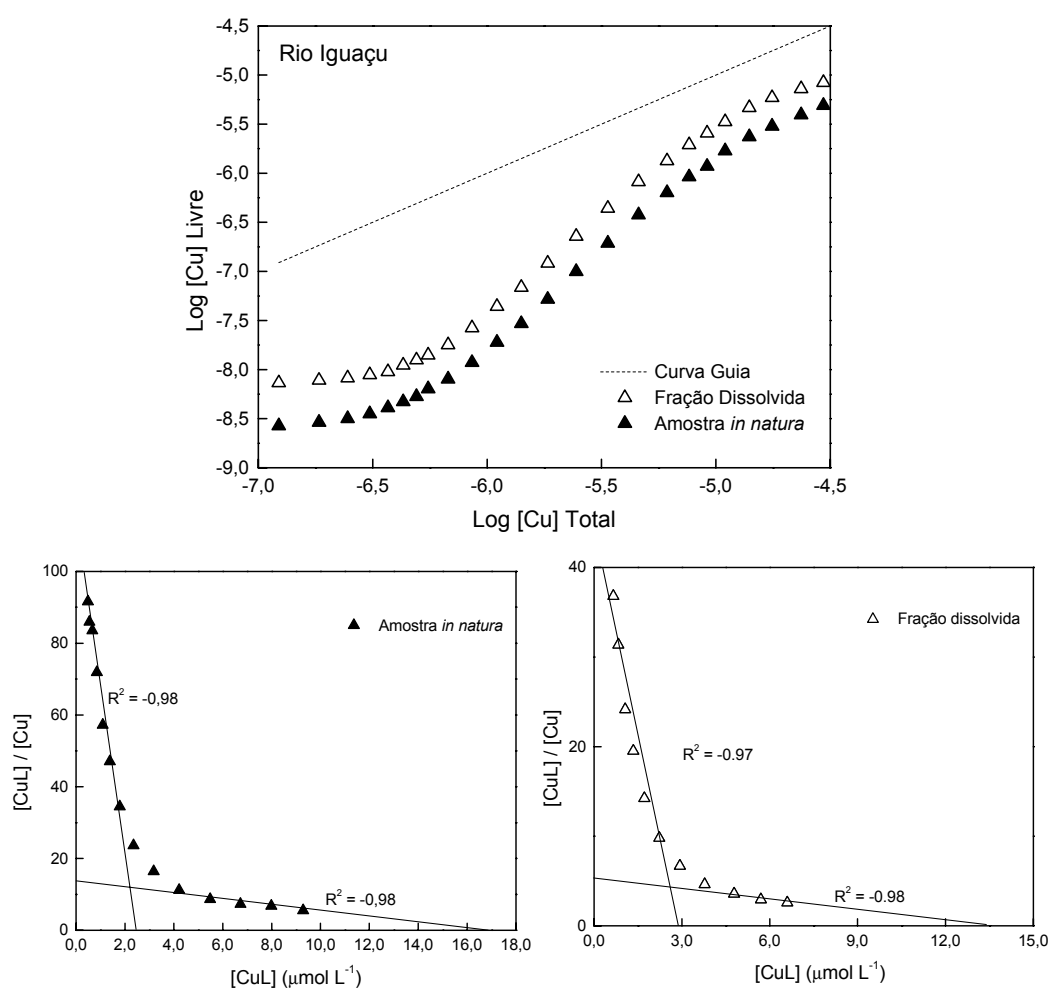


Figura 32. Curvas de titulação potenciométrica para uma amostra do Rio Iguaçu e representação dos gráficos de Scatchard para a fração dissolvida e amostra *in natura*.

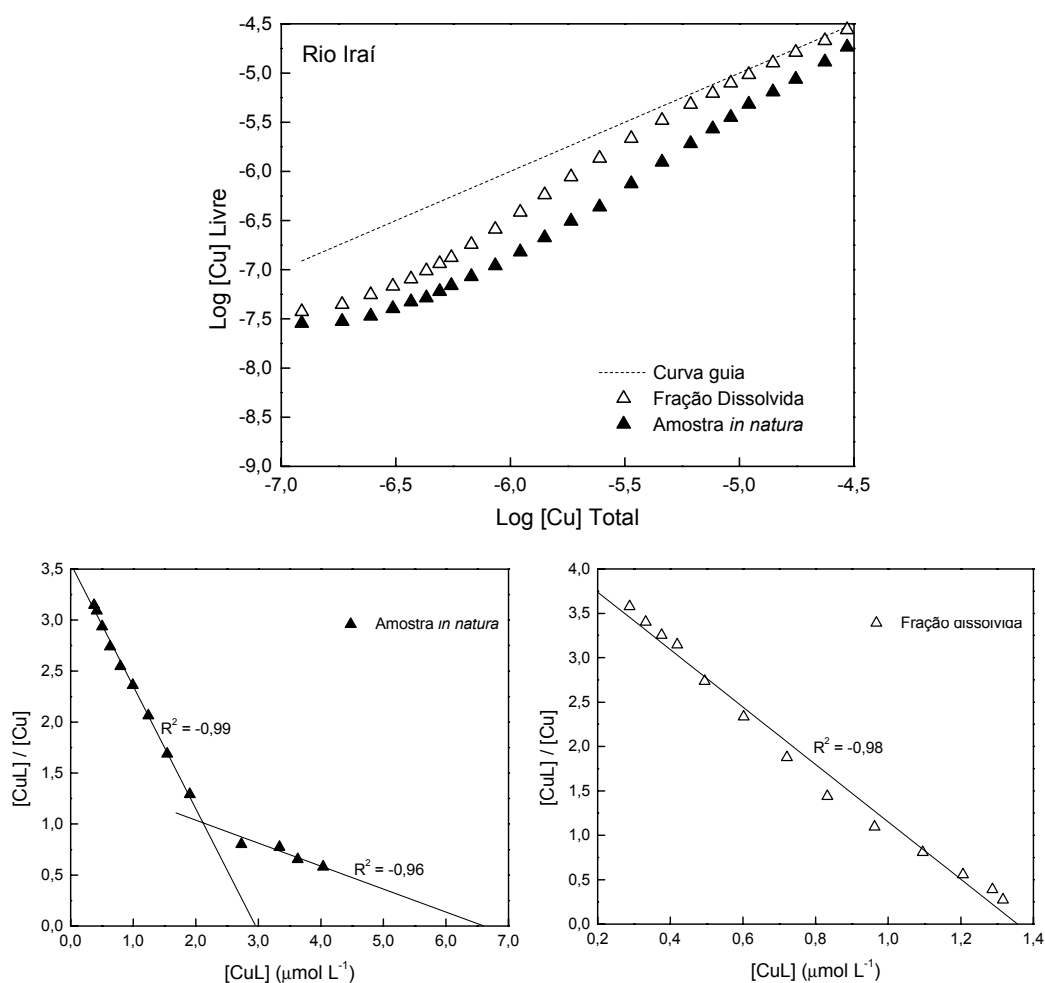


Figura 33. Curvas de titulação potenciométrica para uma amostra do Rio Iraí e representação dos gráficos de Scatchard para a fração dissolvida e amostra *in natura*.

Com base nas diferenças entre a curva guia e a curva produzida pela titulação das amostras de águas naturais, observa-se nas Figuras 32 e 33 que tanto o Rio Iguaçu quanto o Rio Iraí possuem ligantes capazes de complexar o cobre. Entretanto, existem diferenças marcantes com relação à forma das curvas de titulação, quando são comparadas amostras dos dois rios. Para o Rio Iguaçu as pode-se observar que curvas de titulação das amostras encontram-se mais distantes da curva guia, ao contrário do comportamento observado nas amostras do Rio Iraí, onde as curvas mostram-se mais próximas. Este comportamento pode ser considerado um indicativo do maior efeito de complexação do cobre pelas amostras do Rio Iguaçu. Nos gráficos de Scatchard mostrados na Figura 32, a



mudança de inclinação das curvas de  $[CuL]/[Cu]$  em função de  $[CuL]$  permite caracterizar dois segmentos de reta referentes a duas classes de sítios de complexação, freqüentemente denominados sítios de forte interação, para o segmento de maior inclinação, e sítios de fraca interação, para o segmento de menor inclinação (Abate e Masini, 1999).

A equação de Scatchard é o resultado da linearização da equação de Langmuir e pode ser expressa da seguinte maneira, com relação a um metal representado por M:

$$[ML_j]/[M] = K_j [L_j]_{total} - K_j [ML_j] \quad (12)$$

onde  $[M]$  é a concentração do metal livre em solução,  $[ML]$  é a concentração do metal complexado,  $K$  é a constante de estabilidade média para o complexo ML e  $j$  representa a classe do sítio de complexação.

Quando  $j = 1$ , o gráfico de Scatchard produz uma única reta cujo coeficiente linear fornece a constante de estabilidade  $K_j$ , em modulo, para o complexo formado entre M e os sítios de ligação da classe  $j$ . Quando  $j = 2$  a equação 12 deixa de ser linear. Entretanto, se os valores de  $K_1$  e  $K_2$  forem significativamente diferentes, dois segmentos lineares podem ser obtidos, permitindo-se estimar a capacidade de complexação e as constantes de estabilidade condicionais para duas classes distintas de sítios de complexação (Buffle, 1990; Abate e Masini, 1999).

Ao comparar os resultados obtidos para amostras dos dois ambientes aquáticos estudados neste trabalho fica evidente que as águas do Rio Iguaçu apresentam uma maior capacidade de complexação, tanto para a fração dissolvida quanto para a amostra *in natura*. Este comportamento se repetiu durante todos os meses de coleta. Entretanto, para as águas do Rio Iraí foi observado um comportamento que evidencia apenas uma classe de sítios complexantes para a fração dissolvida. Na amostra *in natura* observa-se que a interação com o cobre ocorre em duas classes de sítios, porém com um grau de complexação significativamente menor, em comparação à amostra *in natura* do

Rio Iguaçu. A presença de apenas uma classe de sítios complexantes para Rio Iraí ocorreu em seis dos doze meses de coleta, sendo que em duas ocasiões este comportamento também foi observado para as amostras *in natura*, nas águas deste rio. Nos demais meses, às águas do Rio Iraí apresentaram dois sítios distintos de ligação, porém com um grau de complexação inferior em comparação ao comportamento observado para o Rio Iguaçu. A Figura 34 mostra os valores obtidos para as constantes de estabilidade condicionais em ambos os rios para todas as amostras coletadas no período de 12 meses.

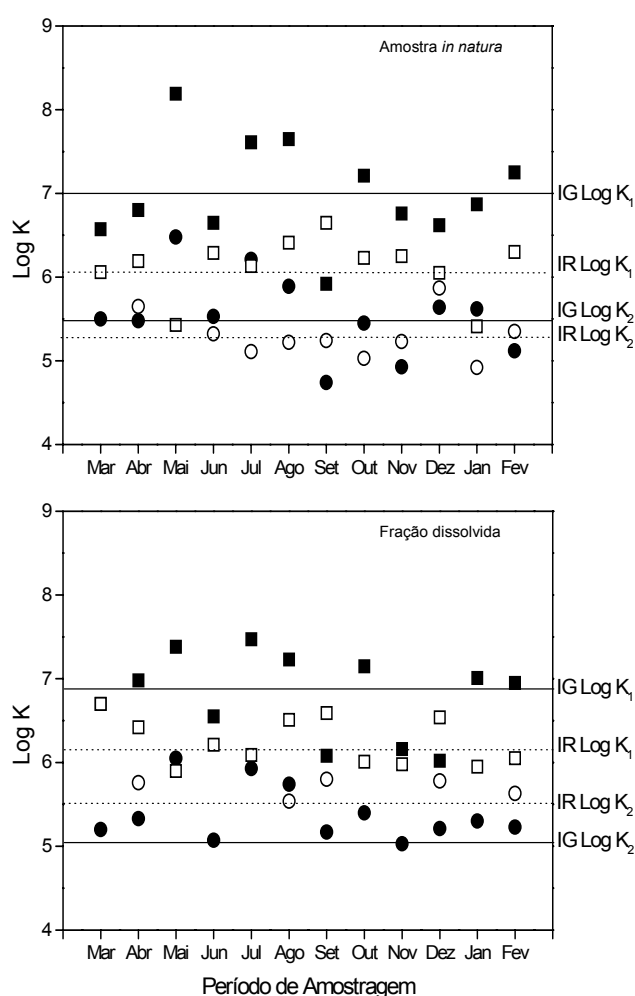


Figura 34. Constantes de estabilidades condicionais para amostras de água dos rios Iraí (símbolos abertos) e Iguaçu (símbolos fechados). Log  $K_1$  são representados por quadrados e Log  $K_2$  por círculos.

Os valores de  $\text{Log } K_1$  e  $\text{Log } K_2$  obtidos para a amostra *in natura* e para a fração dissolvida, em ambos os rios, encontram-se distribuídos em função dos meses de coleta. As linhas horizontais representam os valores médios observados durante todo o período de amostragem. Estes valores médios apresentaram estimativas de desvio padrão inferiores a 10% significando que, para cada um dos corpos aquáticos, os valores das constantes de estabilidade não apresentaram diferenças significativas durante o período de coleta. Comportamento semelhante foi observado por Antelo e colaboradores (1998), que avaliaram a influência sazonal nos parâmetros de complexação do cobre em águas interiores na Espanha.

De uma maneira geral, as águas do Rio Iguaçu apresentaram valores superiores para  $\text{Log } K_1$ , tanto para a fração dissolvida quanto para a amostra *in natura*, em relação aos valores observados para as amostras do Rio Iraí. Valores mais elevados de  $K$  indicam uma maior estabilidade dos complexos formados nas amostras do Rio Iguaçu. Este comportamento pode ser decorrente dos níveis mais elevados de COD e SST determinados para este rio durante todo o período de coleta. Além disso, observou-se nas águas do Rio Iguaçu uma diferença mais significativa entre os valores de  $K$  para as duas classes de sítios presentes. Neste caso,  $K_1$  é cerca de 26 vezes maior que  $K_2$  nas águas deste rio, enquanto que no Rio Iraí,  $K_1$  é no máximo 6 vezes maior que  $K_2$ . Este comportamento mostra que existe uma maior similaridade entre os sítios de complexação nas águas do Rio Iraí em comparação às amostras do Rio Iguaçu.

Os valores de capacidade de complexação obtidos na fração dissolvida e em amostras *in natura* nos rios Iraí e Iguaçu, são mostrados na Figura 35 em gráficos do tipo *box-whiskers*.

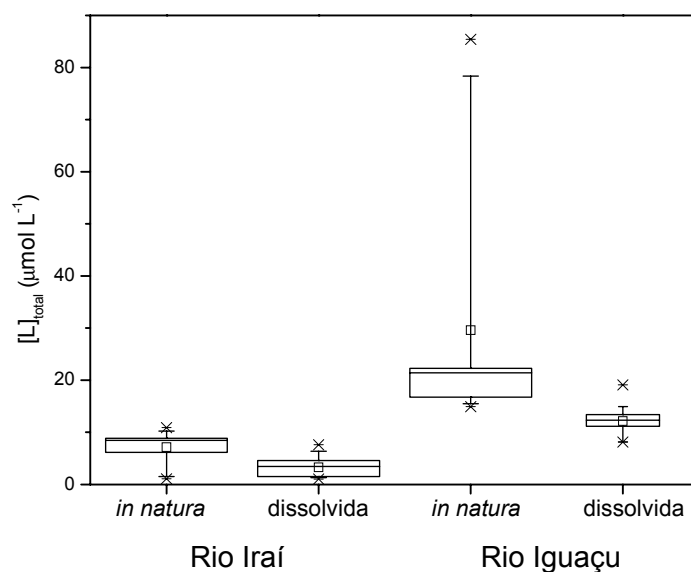


Figura 35. Capacidade de complexação nos rios Iraí e Iguaçu. As linhas horizontais da caixa representam 25, 50 (mediana) e 75% dos valores; barras de erro indicam 5 e 95%; (X) expressa 1 e 99% e (–) corresponde aos valores máximos e mínimos. A media aritmética é representada pelos símbolo □

A partir da Figura 35 pode-se observar que as águas do Rio Iguaçu apresentaram valores mais elevados de capacidade de complexação, tanto na amostra *in natura* quanto na fração dissolvida. A concentração de sítios ligantes nas águas do Rio Iguaçu é, em média, cerca de 4 vezes maior do que aquela observada para o Rio Iraí. Como já foi mostrado na Figura 21, o Rio Iguaçu apresentou níveis mais elevados de COD e SST durante praticamente todo o período de coleta, em comparação às águas do Rio Iraí.

Diversos estudos comprovam a elevada afinidade existente entre o cobre a matéria orgânica dissolvida natural (Cabaniss e Shuman, 1988; Donat *et al.*, 1994). Lu e Allen (2002) avaliaram a complexação do cobre pela matéria orgânica dissolvida natural e identificaram até quatro classes de sítios ligantes. Concluíram que o cobre encontra-se mais fortemente complexado na classe de sítios que apresenta a menor capacidade de complexação, ou seja, concentrações de sítios ligantes inferiores. O modelo de Scatchard também prevê este comportamento, uma vez que quanto maior a diferença entre  $K_1$  e  $K_2$ , menor será a concentração

de ligantes associada ao sítio de maior estabilidade de ligação, ou seja,  $K_1$ . Para as águas do Rio Iguaçu as classes de sítios complexantes que apresentaram maior estabilidade nos complexos formados contribuíram apenas com 16% para a concentração total de ligantes. No Rio Iraí os ligantes mais estáveis contribuíram com cerca de 40% em média.

É importante mencionar que no Rio Iguaçu foram determinados valores de capacidade de complexação mais elevados para as amostras *in natura* nos meses de novembro de 2002 e fevereiro de 2003 atingindo concentrações de 78 e 85  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Este comportamento se deve, principalmente, aos teores de material particulado em suspensão mais elevados, que foram determinados nas águas do Rio Iguaçu nestes meses. Nestes casos, foram determinados teores de SST de 168 e 218  $\text{mg L}^{-1}$ , para os meses de novembro e fevereiro, respectivamente.

Na Figura 36 são apresentados os dados referentes à concentração total de ligantes na fração dissolvida em função dos teores de carbono orgânico determinados na fração dissolvida, para ambos os rios.

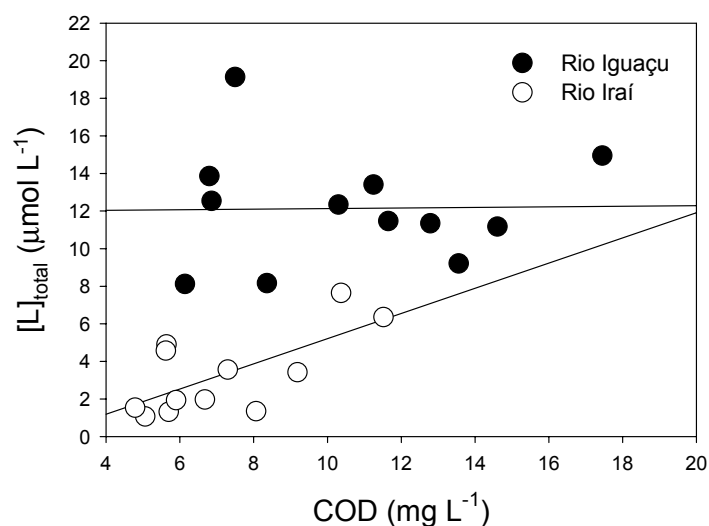


Figura 36. Influência dos teores de carbono orgânico dissolvido na capacidade de complexação para os Rios Iraí e Iguaçu.

Observam-se comportamentos distintos com relação à influência dos teores de COD na capacidade de complexação para os rios Iraí e Iguaçu. Para o Rio Iraí nota-se que os valores de capacidade de complexação são proporcionais aos teores de COD. Este comportamento indica que os sítios de complexação associados à matéria orgânica dissolvida exercem um importante papel na complexação do cobre nas águas do Rio Iraí. Para o Rio Iguaçu este comportamento não foi observado. Este resultado pode parecer, até certo ponto, incoerente considerando que nas águas deste rio os complexos formados apresentaram uma estabilidade superior quando comparada à estabilidade dos complexos determinados para amostras do Rio Iraí. Neste caso existem duas hipóteses que podem explicar esta anomalia.

Certamente, as águas do Rio Iguaçu encontram-se mais impactadas devido aos efeitos do processo de urbanização. A avaliação da qualidade das águas do Rio Iguaçu e os resultados obtidos através da análise de componentes principais evidenciaram que o aporte de águas residuais é um aspecto determinante para a presença de carbono orgânico nas águas deste rio. Segundo Stumm e Morgan (1996) substâncias orgânicas aportam em ambientes aquáticos a partir de inúmeras fontes, o que pode provocar variações nos níveis de concentração determinados e na diversidade de tipos de matéria orgânica em corpos aquáticos receptores. É esperado, portanto, que diferentes tipos de matéria orgânica apresentem diferentes concentrações de sítios ligantes capazes de complexar metais.

Kunz e Jardim (2000) avaliaram a capacidade de complexação do cobre em águas residuais e observaram que os parâmetros de complexação obtidos mostravam-se diferentes quando comparados a amostras de esgoto tratado e águas naturais. Com base nestas evidências, acredita-se que o aporte de esgoto nas águas do Rio Iguaçu pode ter contribuído para a ocorrência de substâncias orgânicas que apresentam diferentes características com relação à complexação de cobre.

A segunda hipótese refere-se à presença de sulfetos nas águas do Rio Iguaçu. Estudos recentes indicam que, mesmo em águas óxicas, a presença de

sulfetos pode governar a especiação de metais em corpos aquáticos naturais (Rozan e Benoit, 1999; Rozan *et al.*, 1999b; Rozan *et al.*, 2000; Bianchini e Bowles, 2002). Além disso, sabe-se que os complexos formados entre o cobre e os compostos de sulfeto apresentam constantes de estabilidade elevadas (Luther III *et al.*, 1999).

A presença de concentrações elevadas de sulfetos nas águas do Rio Iguaçu, como consequência do aporte de águas residuais, também pode ter contribuído para o comportamento anômalo observado na Figura 36. Neste caso, acredita-se que o sulfeto possa competir com a matéria orgânica dissolvida pela complexação do cobre nas águas do Rio Iguaçu. De fato, alguns resultados obtidos em nosso laboratório demonstram que a porcentagem de cobre complexado com sulfeto na fração dissolvida aumenta em função da diminuição da concentração de oxigênio dissolvido em rios localizados na RMC. Levando-se em consideração o estado de deterioração das águas do Rio Iguaçu que em alguns meses apresentou valores de OD menores que  $1 \text{ mg L}^{-1}$ , é possível que a presença de sulfetos em solução exerçam um papel importante da complexação do cobre na fase dissolvida.

A avaliação capacidade de complexação de águas naturais frente a metais refere-se, em última análise, à determinação da concentração de sítios capazes de complexar o metal. Estes sítios encontram-se naturalmente disponíveis para interagir com o metal adicionado durante o procedimento de titulação. Hipoteticamente falando, se uma amostra de água natural apresentar concentrações de metais iguais à zero, seriam titulados todos os sítios ligantes disponíveis à complexação. Entretanto, em uma amostra real, metais interagem naturalmente com os ligantes presentes no meio e, conseqüentemente, a avaliação da capacidade de complexação nesta amostra forneceria apenas a concentração de sítios ligantes desocupados. Os resultados apresentados na Figura 36, por exemplo, referem-se apenas às concentrações de ligantes disponíveis em função dos teores de COD para os rios Iraí e Iguaçu. Na Figura 37 é apresentada a relação existente entre as concentrações de cobre complexado na fração dissolvida (CuL) e os teores de COD para ambos os rios.

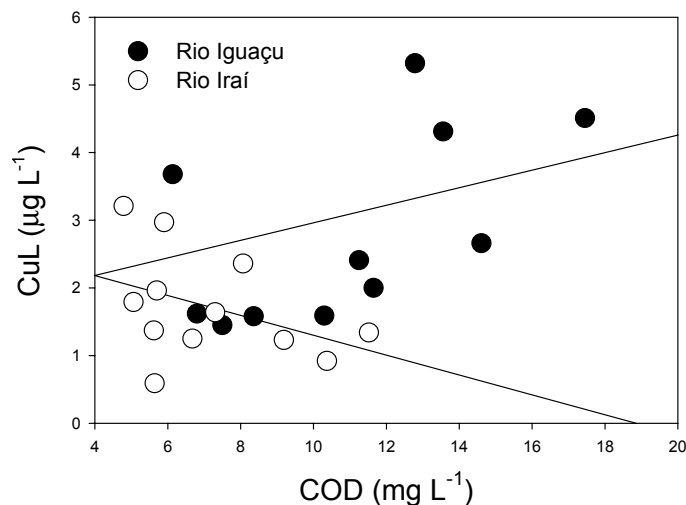


Figura 37. Concentrações de cobre complexado em função do teor de carbono orgânico dissolvido para as águas dos Rio Iraí e Iguaçu.

Na Figura 37 é possível observar que existe uma grande diferença quando os dois ambientes aquáticos são avaliados. As concentrações de cobre complexado na fração dissolvida aumentam quando os níveis de COD tornam-se mais elevados no Rio Iguaçu. Entretanto, no Rio Iraí, uma diminuição nos teores de cobre complexado é observada na fração dissolvida quando o teor de carbono orgânico nesta fração aumenta. Dois aspectos podem ser responsáveis por este comportamento. A avaliação da capacidade de complexação para os rios Iraí e Iguaçu evidencia diferenças significativas com relação aos parâmetros de complexação determinados para os dois ambientes aquáticos. As águas do Rio Iguaçu sempre apresentaram níveis superiores de sítios ligantes, além de valores mais elevados referentes às constantes de estabilidade condicionais, em contraposição ao comportamento observado para o Rio Iraí. Outro aspecto importante pode estar relacionado à presença de material coloidal na fração dissolvida. Com base na avaliação da partição do cobre em ambos os rios, foi visto que nas amostras do Rio Iraí a presença de colóides mostrou-se superior em relação ao observado no Rio Iguaçu. Estes colóides podem ser predominantemente inorgânicos e podem ter sido responsáveis pela correlação negativa existente entre os níveis cobre complexado e os teores de carbono



orgânico presentes na fração dissolvida. Para se avaliar a influência de compostos inorgânicos na partição e na adsorção do cobre, amostras da fração dissolvida dos rios Iraí e Iguaçu foram enriquecidas com quantidades crescentes de sedimentos coletados em cada um dos ambientes aquáticos naturais estudados neste trabalho. Estas suspensões foram utilizadas como forma de representar o conteúdo sólido de ambos os corpos de água e, desta maneira, permitir uma avaliação controlada dos processos de partição do metal. A utilização de sedimentos como sólido modelo tem sido empregada em trabalhos que buscam avaliar a importância de espécies inorgânicas na adsorção e partição de metais tanto na fração particulada, quanto na coloidal (Sondi e Pravdic, 1998).

Os sedimentos e o material particulado de ambos os rios foram submetidos a avaliações qualitativas empregando-se RPE e Difratometria de Raios-X. A Figura 38 mostra espectros de RPE obtidos para os sedimentos e para o material particulado de ambos os rios.

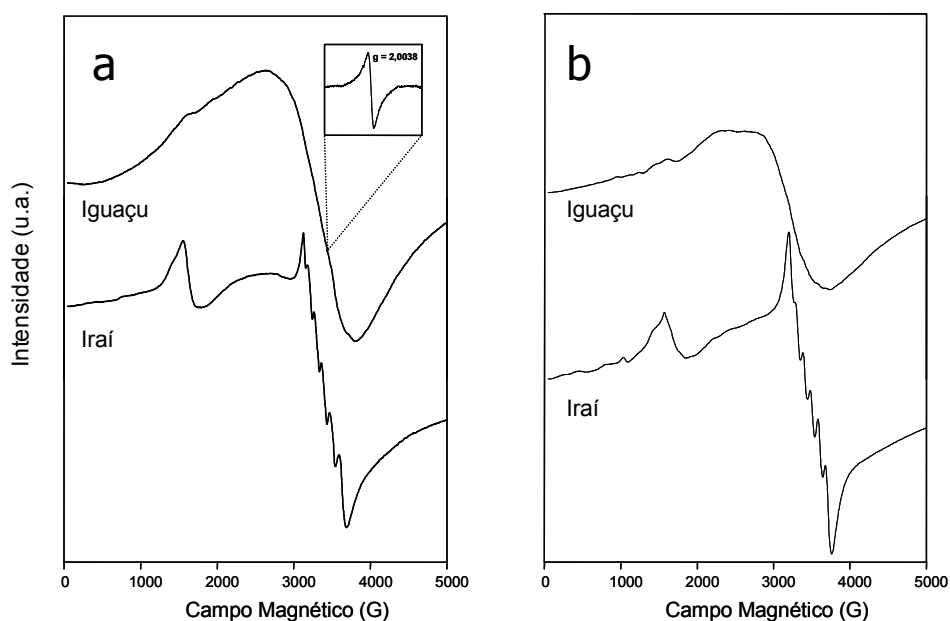


Figura 38. Espectros de RPE para (a) material particulado extraído por centrifugação e (b) sedimentos coletados nos Rios Iraí e Iguaçu. Na Figura “a”, em detalhe, linha de ressonância de radical livre orgânico em  $g = 2,0038$  para amostra do Rio Iguaçu.

Os espectros de RPE mostrados na Figura 38 evidenciam algumas semelhanças existentes entre as amostras de material particulado e sedimentos para cada um dos rios estudados. Pode ser observado que, para amostras do Rio Iraí, os espectros de ressonância apresentam linhas características de ferro em domínios diluídos e sinais característicos da presença de  $Mn^{2+}$  em ambos os materiais sólidos analisados. As amostras do Rio Iguaçu também se mostraram similares, uma vez que tanto no material particulado, quanto no sedimento, podem ser observadas linhas de ressonância de Ferro em domínios diluídos e em domínios concentrados. Pode-se observar ainda, na Figura 38a, a presença de um sinal em  $g = 2,0038$ . Este sinal característico de substâncias húmicas não aparece no espectro de ressonância para o sedimento do Rio Iguaçu indicando que, provavelmente, as formas de carbono associadas a este material encontram-se em um menor grau de humificação.

Na Figura 39 são mostrados os difratogramas de raios-X obtidos para amostras de sedimento e material particulado coletados nos rios Iraí e Iguaçu.

Em ambos os casos pode-se observar que o difratograma referente ao material particulado apresenta uma maior relação sinal/ruído, além de uma distorção na linha base entre, aproximadamente,  $15^\circ$  e  $45^\circ$ . O primeiro comportamento foi decorrente da baixa quantidade de material disponível para a execução da análise, o que promove uma diminuição da sensibilidade da medida. O desvio da linha base, por sua vez, ocorre devido ao uso da lamina de vidro amorfo, cuja difração também é detectada durante a análise. Estes comportamentos são comuns a não prejudicam a interpretação dos difratogramas.

Na Figura 39a, as 13 linhas verticais indicam a existência de picos que aparecem tanto no difratograma do material particulado quanto do sedimento. Este comportamento sugere a existência de uma grande similaridade entre a composição do material particulado e do sedimento do Rio Iguaçu.

Na Figura 39b também existe uma maior relação sinal/ruído e um desvio da linha base para o difratograma obtido para amostra de material particulado do Rio Iraí. Observa-se novamente a presença de pelo menos, 13 picos de difração

no material particulado e no sedimento sugerindo uma grande similaridade entre as amostras do Rio Iraí.

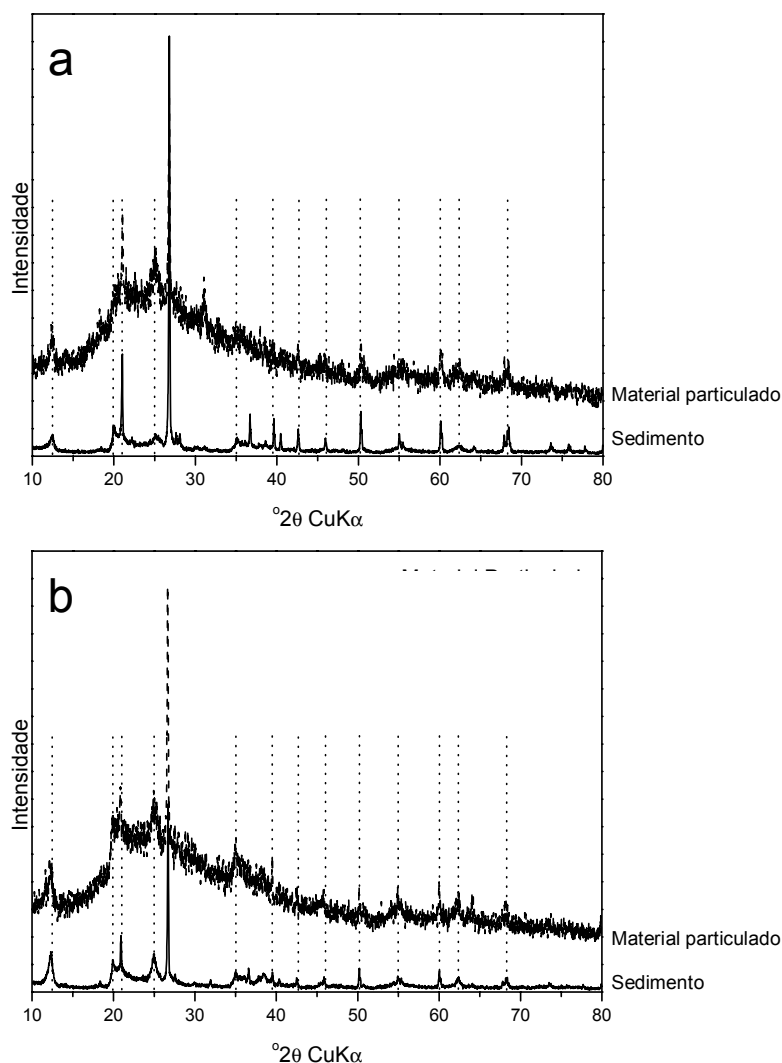


Figura 39. Difratomogramas de raios-X para amostras de material particulado e sedimentos do (a) Rio Iguaçu e (b) Rio Iraí. Os difratogramas para os sedimentos foram obtidos em lâmina de aço inox, enquanto que o material particulado, em lâmina de vidro. Para melhor visualização dos sinais, as intensidades no difratograma para o material particulado, que apresentam menor relação sinal-ruído, estão mostradas com um aumento relativo de cinco vezes em comparação ao do sedimento.

Nos difratogramas mostrados na Figura 39 nenhum pico foi atribuído a qualquer propriedade cristalina de substâncias presente nas amostras. Nestas

análises, o principal objetivo foi verificar a existência de similaridades entre as diferentes matrizes. Desta maneira, com base nos resultados obtidos nas análises de RPE e difração de raios-X, acredita-se que existe uma grande semelhança entre o material particulado e o sedimento coletado em cada um dos rios. Acredita-se, ainda, que esta semelhança ocorre, principalmente, devido aos constituintes inorgânicos presentes tanto no material particulado quanto no sedimento. Este comportamento é, comumente, resultado da precipitação natural de partículas em suspensão que vão se acumulando no leito dos rios e que formam sedimento. Finalmente, com base na avaliação comparativa entre os sedimentos e o material particulado de cada rio, as amostras de sedimento podem ser utilizadas para mimetizar o comportamento do material particulado em suspensão nos experimentos controlados envolvendo a adsorção e partição do cobre empregando amostras modelo.

Para avaliar a capacidade de adsorção dos sedimentos frente ao cobre foram preparadas suspensões contendo  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de sedimento, previamente moído e peneirado em 300 Mesh. As suspensões foram preparadas empregando-se alíquotas da fração dissolvida das águas dos rios Iraí e Iguaçu. Estas suspensões foram avaliadas quanto à capacidade de interação com o cobre por meio de titulações potenciométricas empregando eletrodo íon-seletivo sensível ao metal e aplicação do modelo de Scatchard (1949) sobre os dados obtidos nas titulações. A concentração de sítios ligantes (capacidade de complexação) e as constantes de estabilidade condicionais para as suspensões de ambos os rios são mostradas na Tabela 8.

Tabela 8. Concentração de sítios ligantes ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) e constantes de estabilidade condicionais para as suspensões dos Rios Iraí e Iguaçu.

	$[L]_1$	$[L]_2$	$[L]_{\text{total}}$	$\text{Log } K_1$	$\text{Log } K_2$
Suspensão Rio Iraí	2,54	27,9	30,4	5,90	4,28
Suspensão Rio Iguaçu	0,56	1,39	1,96	6,38	4,83

Pode-se observar, na Tabela 10, que a suspensão do Rio Iraí apresentou maiores quantidades de sítios disponíveis para interação com o cobre onde  $[L]_{total}$  foi de  $30,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ , enquanto que o valor determinado para a suspensão do Rio Iguaçu que foi de  $1,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Estes valores indicam que a suspensão do Rio Iraí apresenta quantidades de sítios disponíveis cerca de 15 vezes superiores em comparação com a suspensão do Rio Iguaçu. Entretanto, os valores determinados para as constantes de estabilidade condicional mostraram-se superiores para as suspensões do Rio Iguaçu, tanto para  $\text{Log } K_1$  quanto para  $\text{Log } K_2$ .

Estes resultados conferem às suspensões do Rio Iraí maiores quantidades de sítios disponíveis para interação com o cobre, porém esta interação deve ocorrer por meio da formação de complexos menos estáveis do que aqueles formados nas suspensões do Rio Iguaçu. Como já foi mencionado, o modelo de Scatchard permite a caracterização de duas classes distintas de sítios de ligação, sendo que o sítio "1" é freqüentemente denominado como de forte interação, enquanto que o sítio "2" caracteriza-se por uma interação mais fraca com a substância complexada (Abate e Masini, 1999). Para a suspensão do Rio Iraí, a razão entre a concentração total de sítios e a concentração dos sítios mais estáveis foi de 11 vezes, enquanto que para a suspensão do Rio Iguaçu, de 3,5 vezes. Este resultado indica que, apesar da suspensão do Rio Iraí apresentar maior concentração total de ligantes, as suspensões do Rio Iguaçu possuem maiores quantidades relativas de sítios mais estáveis.

A adsorção de cobre junto ao sedimento em suspensão também foi avaliada empregando-se quantidades crescentes de sedimento em amostras da fração dissolvida dos rios Iraí e Iguaçu. A Figura 40 mostra os resultados obtidos para a adsorção do cobre nas suspensões de ambos os rios.

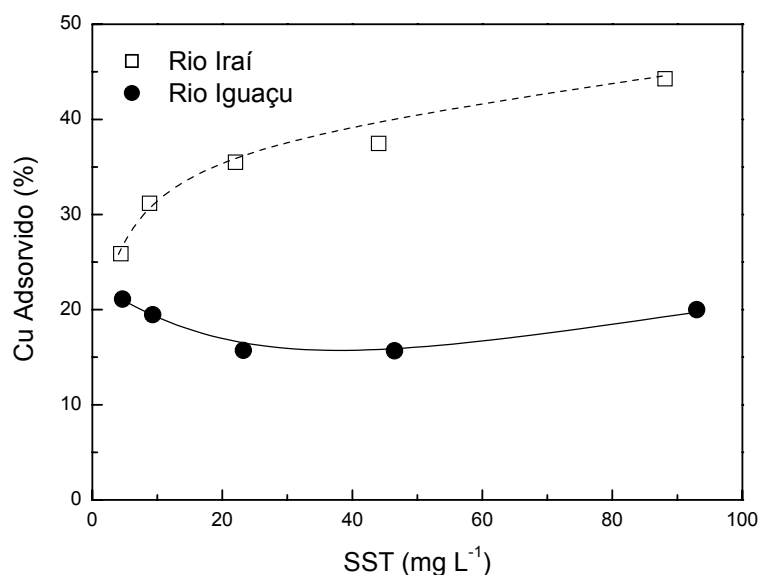


Figura 40. Porcentagem de cobre adsorvido em função dos teores de sólidos suspensos totais para suspensões dos rios Iraí e Iguaçu

A Figura 40 mostra a variação do teor de cobre adsorvido em suspensões dos rios Iraí e Iguaçu em função do teor de SST que foi determinado para todas as amostras representativas de cada rio. Observam-se comportamentos distintos quando são comparadas as das suspensões. Nas suspensões do Rio Iraí, pode ser notada uma maior associação do cobre ao sedimento em suspensão em comparação ao comportamento observado para as amostras representativas do Rio Iguaçu. Para as suspensões do Rio Iraí observa-se um aumento gradual da quantidade de cobre adsorvido em função do aumento do teor de material particulado em suspensão. Este aumento parece ser maior no início, porém com o incremento do teor de sólidos este comportamento torna-se menos acentuado. No caso das suspensões do Rio Iguaçu, ao contrário, observa-se que a adsorção do cobre se mantém constante em função do aumento do teor de sólidos em suspensão. Para ambas as suspensões, nota-se que menos de 50% do teor total de cobre permaneceu associado ao material particulado indicando uma preferência do metal em se associar aos ligantes presentes na fração dissolvida.

O maior efeito de adsorção nas amostras sintéticas do Rio Iraí pode ser explicado pelas maiores quantidades de sítios disponíveis para interação com o

cobre. A associação preferencial do cobre junto ao material sólido nas suspensões do Rio Iraí, em contraposição ao comportamento observado nas suspensões do Rio Iguaçu, evidencia uma inversão dos resultados esperados, uma vez que, durante o período de amostragem, foi observada uma maior associação do cobre ao material particulado do Rio Iguaçu. No Rio Iraí, o cobre permaneceu preferencialmente associado aos ligantes presentes na fração dissolvida.

Um dos principais aspectos que pode explicar este comportamento é a existência de cobre que se encontra naturalmente complexado ao sedimento utilizado durante os experimentos.

A determinação da capacidade de complexação/adsorção do cobre, assim como a avaliação da adsorção em função do teor de sólidos em suspensão, foi realizada com a amostra de sedimento *in natura*, ou seja, que não sofreu qualquer tipo de tratamento para remoção de cobre ou outros metais que se encontravam previamente complexados. Desta maneira, só foram contabilizados nestes experimentos os sítios que se encontravam desocupados.

Através da determinação do teor total de cobre recuperável em suspensões contendo  $25 \text{ mg L}^{-1}$  de sedimento de cada rio, fez-se uma estimativa para a quantidade de sítios ocupados pelo cobre nestes sedimentos. Neste caso, foi observado que a amostra representativa do Rio Iguaçu apresentou uma concentração superior de CuTR em comparação à amostra do Rio Iraí. Estima-se que cerca de 7,1% de todos os sítios disponíveis para complexação ou/e adsorção de metais já se encontravam previamente ocupados pelo cobre, enquanto que no sedimento do Rio Iraí apenas 0,1% dos sítios encontravam-se ocupados. Estes resultados indicam que no Rio Iguaçu, o sedimento contém uma quantidade relativa de cobre 70 vezes maior que o sedimento coletado no Rio Iraí. Talvez este seja um dos principais aspectos que contribuíram para a maior capacidade de complexação/adsorção determinada nas suspensões do Rio Iraí em comparação ao comportamento observado nas suspensões do Rio Iguaçu.

Outro aspecto refere-se à presença de material orgânico humificado, que foi determinado nas amostras do material particulado do Rio Iguaçu. Como já foi mostrado na Figura 38, espectros de RPE evidenciaram a presença de uma linha

de ressonância característica de radical livre orgânico derivado de compostos semi-quinônicos conjugado a sistemas aromáticos (Senesi, 1990b). O aparecimento do sinal referente à presença de substância húmicas no material particulado natural, mas não nas amostras de sedimento do Rio Iguaçu, sugere a existência de maiores quantidades de sítios de complexação nos sólidos em suspensão neste rio.

A partição do cobre nas suspensões dos rios Iraí e Iguaçu também foi avaliada em amostras da fração dissolvida de ambos os rios enriquecidas com quantidades crescentes de sedimento. Os resultados para este experimento encontram-se na Figura 41.

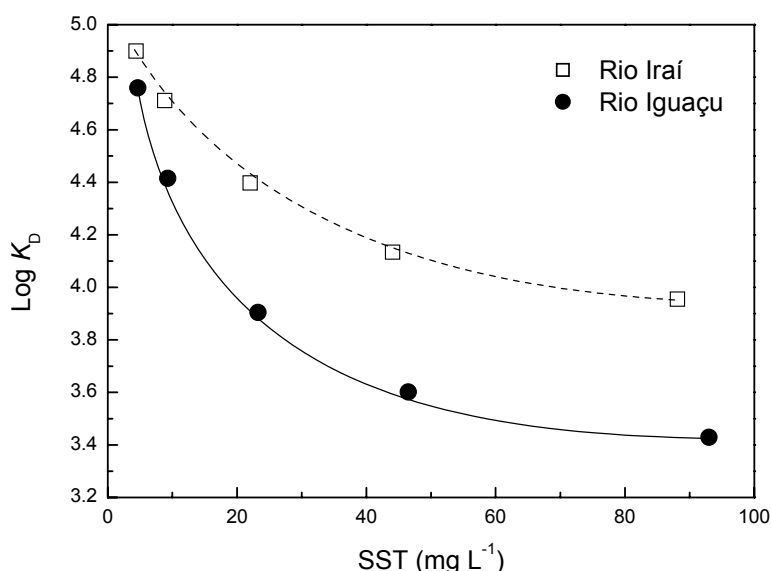


Figura 41. Partição do cobre em função dos teores de sólidos suspensos totais para suspensões dos rios Iraí e Iguaçu

Na Figura 41 são apresentados os resultados obtidos para a distribuição do cobre entre as frações particulada e dissolvida, representada pelo logaritmo dos coeficientes de partição ( $K_D$ ), em função dos teores de sólidos em suspensão. Pode-se observar valores sistematicamente superiores de  $\text{Log } K_D$  para suspensões do Rio Iraí, em comparação às amostras sintéticas do Rio Iguaçu. Este comportamento indica que, em toda a faixa de concentração de SST, as amostras modelo do Rio Iraí apresentaram maior capacidade de adsorção. No



caso das amostras do Rio Iguaçu, a ausência de matéria orgânica particulada nos sedimentos empregados como sólidos modelo, foi a principal responsável pela diferença observada entre as amostras reais e simuladas para este rio. Observa-se também que existe uma correlação exponencial decrescente entre os dois parâmetros avaliados, que pode ser atribuída ao efeito de concentração de partículas (Benoit *et al.*, 1994).

De uma maneira geral, os resultados obtidos demonstram que o sedimento do Rio Iraí apresenta uma maior capacidade de adsorção do cobre, em comparação ao sedimento do Rio Iguaçu. Análises qualitativas de ressonância paramagnética eletrônica e difração de raios-X demonstraram que existe uma grande similaridade entre o sedimento coletado no Rio Iraí e o material particulado presente nas águas deste rio. Pode-se estimar, portanto, que tanto o sedimento quanto o material particulado deste rio possuem características similares com relação à adsorção do cobre. Para confirmar esta hipótese os resultados para a partição do cobre nas amostras naturais e nas suspensões preparadas em laboratório foram comparados e são mostrados na Figura 42.

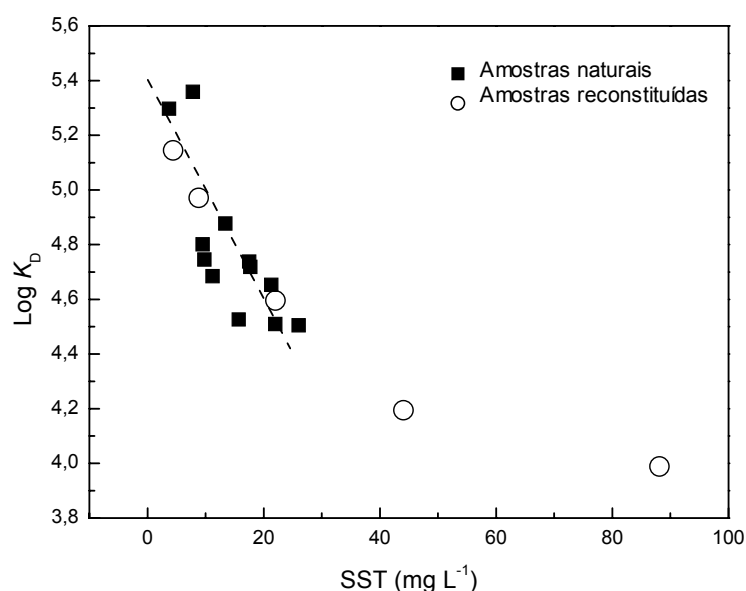


Figura 42. Comparação entre os resultados obtidos para a partição de cobre em amostras de águas naturais do Rio Iraí e amostras sintéticas preparadas com sedimento coletado neste rio.

Como pode ser visto na Figura 42, amostras sintéticas e naturais do Rio Iraí mostraram comportamentos semelhantes quanto à partição do cobre em função dos teores de SST. Para valores de SST menores que  $30 \text{ mg L}^{-1}$ , observa-se que os pontos obtidos para as amostras sintéticas se intercalam entre os resultados obtidos para as amostras naturais. Em concentrações de SST superiores a  $30 \text{ mg L}^{-1}$ , pode-se estimar, ainda, um possível comportamento com relação à partição do cobre em águas naturais, no qual o metal pode se comportar de maneira similar à curva exponencial decrescente observada para as amostras sintéticas (Figura 42). Os dados obtidos para as amostras sintéticas do Rio Iguaçu não foram coerentes com os resultados gerados a partir das amostras naturais. Neste caso, acredita-se que a presença de matéria orgânica particulada nas águas do Rio Iguaçu foi, de fato, o principal responsável pela partição do metal na coluna de água, uma vez que nas amostras simuladas, o sedimento do Rio Iguaçu não mostrou-se semelhante ao material particulado coletado no rio. Para o Rio Iraí, entretanto, foram observados comportamentos semelhantes com relação à partição de cobre entre as amostras naturais, coletadas durante um ano, e as suspensões sintéticas preparadas com sedimentos deste rio. Ou seja, acredita-se que nestas amostras o cobre também permaneceu mais fortemente associado aos colóides assim como foi observado para as amostras naturais.

Segundo Sañudo-Wilhelmy e colaboradores (1996) a origem dos colóides inorgânicos em águas naturais é decorrência dos processos de intemperismo natural, assim como da ressuspensão de sedimentos e partículas para a coluna de água. Desta maneira, acredita-se que a constituição dos sedimentos, do material particulado e também dos colóides inorgânicos é a mesma em ambientes aquáticos naturais. Por este motivo, é esperado que os processos que governam a adsorção e partição na fração particulada sejam similares àqueles que ocorrem em nível coloidal. De fato, alguns estudos mostram que a partição na fração coloidal ocorre de forma semelhante ao comportamento da partição no material particulado (Lead *et al.*, 1999; Wells *et al.*, 2000). Sañudo-Wilhelmy e colaboradores (1996) avaliaram a distribuição de elementos-traço em águas superficiais da Bacia do Rio São Francisco, nos Estados Unidos, e observaram

que o coeficiente de partição para partículas coloidais e para partícula maiores que 0,45  $\mu\text{m}$  encontraram-se na mesma ordem de magnitude. Além disso, os autores sugerem que, para ambos os tamanhos de partículas, os sítios de ligação são semelhantes e que apresentam valores de constante de estabilidade condicional, também similares. Lead e colaboradores (1999) verificaram que a constante de estabilidade do material inorgânico presente, tanto no material particulado quanto na fração coloidal não está associada ao tamanho da partícula, mas à área superficial específica dos componentes. Com base em todos os resultados apresentados e, considerando que o material coloidal inorgânico presente na fração dissolvida nas águas do Rio Iraí apresenta composições similares ao material particulado em suspensão, acredita-se que a associação do cobre com colóides inorgânicos exerce um papel essencial para a distribuição do metal na coluna de água. Isto não significa que os constituintes orgânicos presentes nesta fração não sejam importantes para a complexação do cobre, mas sim que, dependendo das características do corpo de água, a associação deste metal com colóides inorgânicos pode, igualmente, governar a especiação e o transporte do cobre em águas naturais. (Pokrovsky e Schott, 2002; Geckeis *et al.*, 2003).

### **3.8. Caracterização da matéria orgânica dissolvida natural empregando fluorescência**

A avaliação das características das estruturas orgânicas presentes na matéria orgânica dissolvida dos rios Iraí e Iguaçu foi conduzida empregando-se fluorescência nos modos de emissão e sincronizada. A Figura 43 mostra os espectros de emissão de fluorescência para ambos os rios em amostras coletadas durante o período de menor pluviosidade, em agosto de 2004 e durante o período chuvoso, em fevereiro de 2005. Nestas figuras, a intensidade de fluorescência, normalmente expressa em unidades arbitrárias, foi normalizada empregando-se os teores de COD determinados nas amostras.

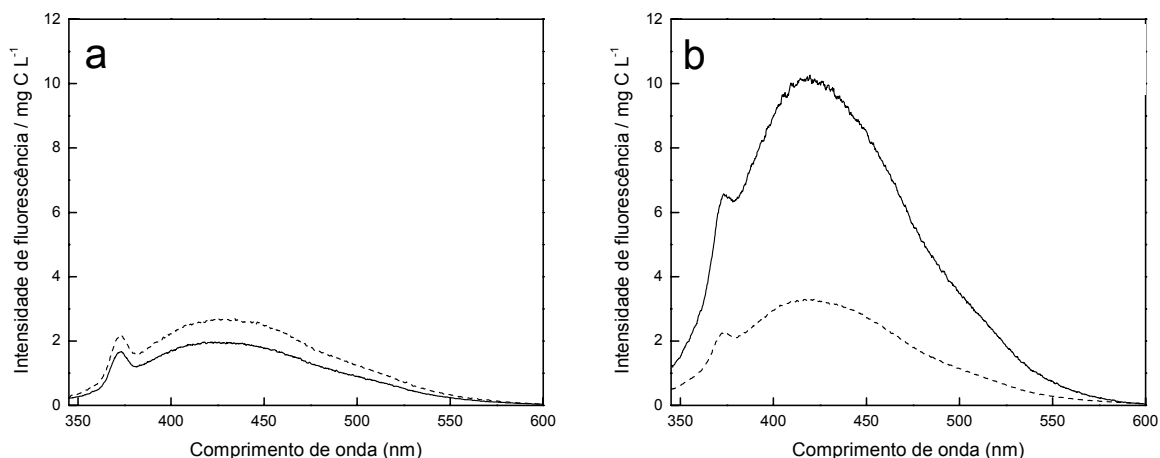


Figura 43. Espectros de emissão de fluorescência molecular obtidos para amostras dos rios Iraí (a) e Iguaçu (b). ( $\lambda_{exc}$ : 330 nm). (—) período de menor pluviosidade; (---) período chuvoso.

A Figura 43 permite observar a existência de diferenças entre as características da matéria orgânica dissolvida de ambos os rios. De um modo geral, as amostras do rio Iguaçu mostraram valores superiores de intensidade de fluorescência em praticamente toda faixa espectral, nos dois períodos sazonais. Entretanto pode-se observar que durante o período chuvoso a intensidade de fluorescência máxima foi similar quando são comparados os dois rios.

Nas amostras do Rio Iraí também foi possível verificar intensidades de fluorescência máximas similares, tanto no período chuvoso quanto no período de menor pluviosidade. Ao contrário do comportamento observado para as amostras do Rio Iraí, no Rio Iguaçu a intensidade de fluorescência máxima foi cerca de 3 vezes maior no período de menor pluviosidade. Nota-se também que não existem diferenças significativas com relação à localização da região de máxima emissão, que para ambos os casos aparece em 425 nm. Todos estes aspectos evidenciam um aumento na concentração e nos tipos de matéria orgânica dissolvida fluorescente a partir da região mais urbanizada.

Com base nos resultados mostrados na análise de componentes principais (Seção 3.5), acredita-se que a principal fonte de matéria orgânica para as águas do Rio Iguaçu é o aporte de esgotos. Neste caso, a maior intensidade de fluorescência para as amostras do Rio Iguaçu é um indicativo da maior

concentração de espécies aromáticas e/ou alifáticas conjugadas, por unidade de carbono neste rio em comparação às amostras do Rio Iraí. A identificação de diferentes estruturas orgânicas em ambos os rios foi avaliada por meio de espectros de fluorescência sincronizada, conforme mostra a Figura 44.

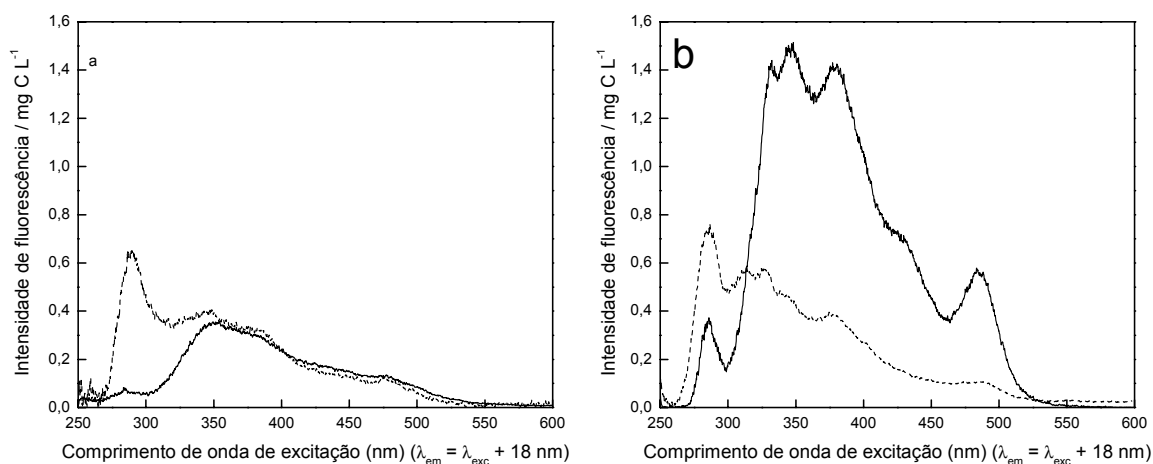


Figura 44. Espectros de fluorescência sincronizada obtidos para amostras dos rios Iraí (a) e Iguaçu (b). ( $\Delta\lambda_{exc}$ : 18 nm). (—) período de menor pluviosidade; (---) período chuvoso.

Os quatro espectros apresentados na Figura 44 mostraram picos localizados em diferentes regiões espectrais, que podem ser atribuídas a diferentes espécies orgânicas. Mais uma vez, as amostras do Rio Iguaçu apresentaram valores superiores de intensidade de fluorescência nos dois períodos sazonais. Entretanto, este aumento não ocorre em toda a faixa espectral, como no caso dos espectros de emissão. Durante o período de menor pluviosidade, para ambos os rios, o pico de emissão máxima aparece em 340 nm, indicando maior concentração relativa de compostos do tipo naftaleno (Peuravuori *et al.*, 2002). Ao contrário, durante o período chuvoso o pico de maior intensidade foi observado em 280 nm para ambos os rios, indicando a presença de aminoácidos aromáticos e alguns outros ácidos voláteis que apresentam uma estrutura alifática mais conjugada. Nas amostras do Rio Iraí observa-se que existe uma grande similaridade entre os espectros de fluorescência sincronizada, na região entre 350 e 600 nm, para as amostras coletadas em ambos os períodos

sazonais. Esta extensa faixa espectral surge a partir da fluorescência de estruturas aromáticas formadas por cerca de 3 a 7 anéis conjugados. Entretanto, na faixa espectral de 250 a 350 nm, a presença de compostos orgânicos de menor complexidade, tais como alifáticos conjugados, promove um aumento do sinal de fluorescência durante o período chuvoso. Na amostra do Rio Iguaçu referente ao período de menor pluviosidade, o espectro sincronizado revelou picos bem definidos localizados em 380, 430 e 480 nm, que também podem ser atribuídos à presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de 3 a 7 anéis. É interessante notar que o pico em 480 nm mostrou-se bem definido para a amostra do Rio Iguaçu, ao contrário do comportamento observado nos espectros do Rio Iraí, indicando a presença de quantidades significativamente superiores de compostos do tipo lignina durante o período de menor pluviosidade. O aparecimento de picos nesta região também tem sido atribuído à presença de substâncias húmicas que podem conferir uma maior aromaticidade à matéria orgânica natural (Westerhoff e Anning, 2000).

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que existem diferenças com relação às características da matéria orgânica de ambos os rios. No período de menor pluviosidade, por exemplo, a amostra do Rio Iguaçu apresentou uma maior variabilidade de picos bem definidos em comparação à amostra do Rio Iraí coletada no mesmo período. Desta maneira, acredita-se que o aporte de matéria orgânica a partir da região urbanizada promoveu quantidades mais elevadas de compostos orgânicos, de diferentes tipos nas águas do Rio Iguaçu. No período de maior pluviosidade, entretanto, nota-se que não existem diferenças significativas entre os espectros de ambos os rios coletados neste período, indicando que, provavelmente, a origem do material orgânico seja a mesma para ambos os corpos aquáticos, ou ainda que o aporte de matéria orgânica a partir da região mais urbanizada não foi suficiente para alterar as características da matéria orgânica dissolvida ao longo dos pontos de amostragem. É interessante notar que, para ambos os corpos aquáticos houve um aumento do pico em 280 nm, referente à presença de aminoácidos aromáticos e

alguns outros ácidos voláteis. Talvez estes compostos ocorram principalmente em função do aporte de fontes difusas de poluição.

Como forma de caracterizar a matéria orgânica dissolvida de ambos os rios em função da aromaticidade, foram preparadas soluções contendo quantidades crescentes de ácido húmico comercial e ácido fúlvico padrão (IHSS). Neste caso a aromaticidade foi calculada empregando-se espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta por meio da razão entre valores de absorbância em 250 e 365 nm, denominada razão  $E_2/E_3$  (Peuravuori e Pihlaja, 1997). A Figura 45 mostra a variação da aromaticidade, expressa em termos da razão  $E_2/E_3$ , em função da concentração de ácido húmico comercial.

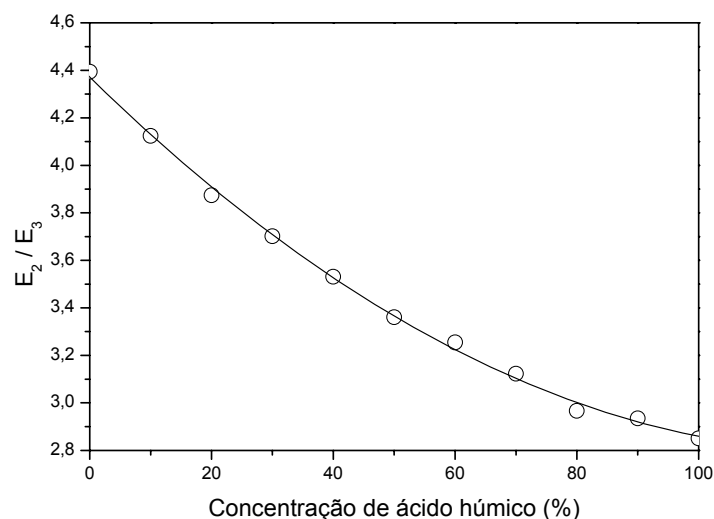


Figura 45. Aromaticidade expressa em termos da razão  $E_2/E_3$  em função da concentração de ácido húmico comercial para soluções preparadas com ácido húmico (AH) comercial e ácido fúlvico (AF) padrão. AH + AF = 100 %.

Segundo o modelo proposto por Peuravuori e Pihlaja, (1997), a aromaticidade tende a aumentar conforme diminui o valor obtido para a razão  $E_2/E_3$ . Portanto, na Figura 45 observa-se que a aromaticidade da matéria orgânica dissolvida aumenta em função da concentração de ácido húmico comercial.

As soluções de AH e AF também foram avaliadas por fluorescência sincronizada no comprimento de onda de 480 nm. A Figura 46 mostra a intensidade de fluorescência normalizada em termos da concentração de COD em função da aromaticidade expressa pela razão  $E_2/E_3$ .

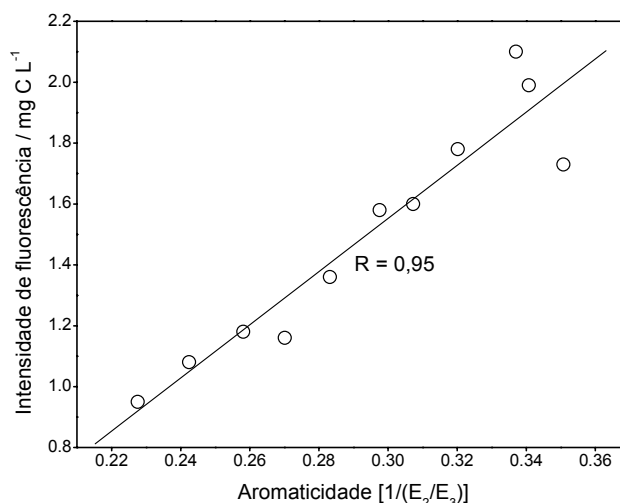


Figura 46. Intensidade de fluorescência relativa em 480 nm (modalidade sincronizada) em função da aromaticidade expressa em termos de  $1/E_2:E_3$  para soluções preparadas com AH comercial e AF padrão. AH + AF = 100 %.

A Figura 46 evidencia um comportamento linear entre os valores de intensidade de fluorescência em 480 nm obtido a partir de espectros de fluorescência sincronizada em função da aromaticidade. De fato, o pico localizado nesta região tem sido associado à presença de substâncias húmicas, porém não existe na literatura referência à associação desta região para estimar a aromaticidade da matéria orgânica dissolvida natural. Desta forma, acredita-se que a elevada emissão de fluorescência mostrada para a amostra do Rio Iguaçu também pode estar associada à maior aromaticidade da matéria orgânica dissolvida presente neste rio.



### 3.9. Capacidade de complexação da MOD por fluorescência

A interação entre espécies metálicas e a matéria orgânica têm sido comumente avaliada por técnicas eletroquímicas tais como voltametria e potenciometria. Métodos baseados na voltametria são freqüentemente empregados, pois oferecem uma janela de detecção que permite a definição de valores de constantes de estabilidades condicionais na faixa de 8 a 9, em termos logarítmicos (Rocha e Rosa, 2003). A potenciometria apresenta uma menor sensibilidade em comparação aos métodos voltamétricos, porém apresenta a vantagem de se trabalhar com a atividade do íon livre em solução.

Como foi visto neste trabalho, corpos aquáticos naturais apresentam diversos tipos de sítios que podem interagir com metais em solução. No caso de amostras do Rio Iraí, por exemplo, foi visto que compostos coloidais inorgânicos foram responsáveis pela adsorção do cobre na fração dissolvida. Deste modo, quando são avaliados os processos de complexação em águas naturais por técnicas eletroquímicas, não é possível fazer uma distinção entre os diferentes materiais presentes na fração considerada dissolvida, que contribuem para a complexação de metais. Estes métodos baseiam-se, exclusivamente, na detecção das formas metálicas presentes em solução e não dos ligantes presentes na amostra.

Para se avaliar isoladamente apenas a influência da MOD natural por meio de métodos eletroquímicos, por exemplo, seriam necessárias a extração e a purificação destas substâncias. Entretanto, pode-se avaliar a capacidade de complexação da MOD por meio de métodos baseados na fluorescência (Ryan *et al.*, 1983).

A interação entre substâncias húmicas e metais pode provocar a atenuação do sinal de fluorescência destas substâncias pela formação de metalo-complexos que não exibem fluorescência. A avaliação desta interação e a obtenção de parâmetros de complexação pode ser obtida por meio de equações matemáticas derivadas do modelo de Scatchard (Ryan *et al.*, 1983).

Com base nestes aspectos, desenvolveu-se neste trabalho um procedimento voltado para a determinação da capacidade de complexação de águas naturais, frente ao cobre, empregando-se fluorescência.

### 3.9.1. Otimização de parâmetros experimentais e instrumentais

Foram desenvolvidos experimentos que visaram avaliar as melhores condições experimentais para a condução de análises de supressão de fluorescência da matéria orgânica dissolvida frente ao cobre. Neste caso, foram avaliados a estabilidade do sinal de emissão e o efeito da concentração de COD na supressão do sinal analítico. Nestes experimentos, foram empregadas soluções de ácido húmico comercial e espectroscopia de fluorescência de emissão. A Figura 47 mostra a estabilização do sinal de supressão em uma amostra de ácido húmico comercial contendo cobre.

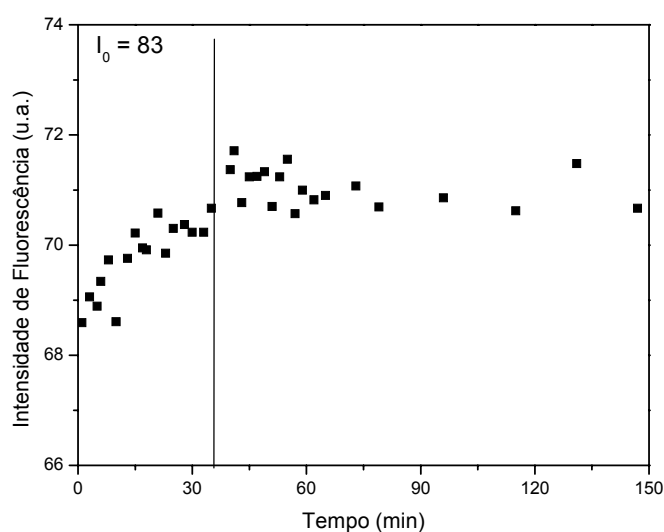


Figura 47. Determinação do sinal de emissão fluorescência em 445 nm em função do tempo em uma solução de ácido húmico comercial 40 mg L<sup>-1</sup>. ( $\lambda_{exc}$  = 330 nm).

Na Figura 47 pode-se observar que a intensidade de fluorescência inicial ( $I_0$ ) para a amostra de ácido húmico foi de 83 unidades arbitrárias (u.a.). Após a adição de cobre, observou-se uma imediata atenuação do sinal de fluorescência para valores de emissão próximos a 69 u.a. Entretanto, nota-se que o sinal de

emissão aumentou, gradativamente, até estabilizar-se após 35 minutos. A linha vertical na figura mostra que a partir de 35 minutos a variação do sinal de emissão não foi significativa. Neste caso, o valor médio de intensidade de fluorescência determinado foi de 71 u.a. Desta forma, tempo de estabilização de 35 min foi empregado durante todos os experimentos de titulação por fluorescência.

Outro parâmetro otimizado foi o efeito da concentração de soluções de ácido húmico comercial no sinal de fluorescência de emissão. A supressão do sinal de fluorescência foi monitorada em soluções contendo 40 e 13,8 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico comercial que foram tituladas com Cu<sup>2+</sup>. A Figura 48 mostra as curvas de titulação obtidas nestes experimentos.

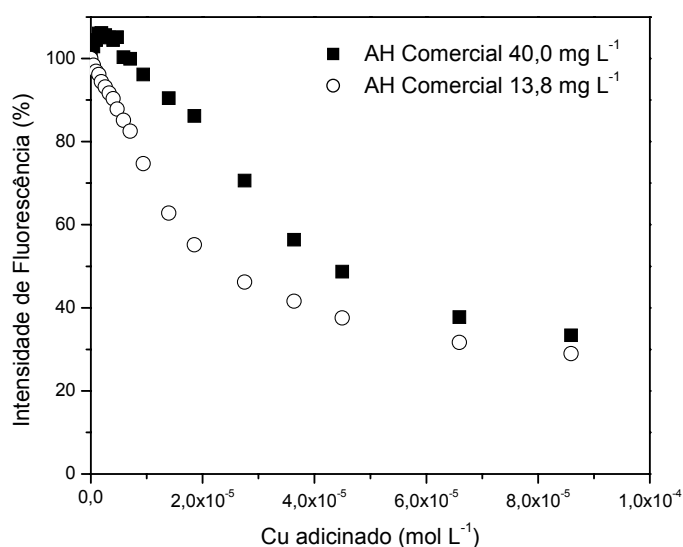


Figura 48. Curva de supressão de fluorescência para soluções 40 e 13,8 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico comercial frente ao cobre monitorada em 440 nm.

A Figura 48 permite observar que as duas soluções de ácido húmico sofrem supressão do sinal de fluorescência com a adição de quantidades crescentes de cobre. Entretanto, observam-se diferenças quanto ao comportamento das curvas de supressão quando são comparadas as duas soluções. Para a solução mais concentrada nota-se que, no início da titulação, existe um pequeno aumento relativo do sinal de fluorescência. Este

comportamento é atribuído a uma variedade de fenômenos que representam uma limitação operacional em experimentos envolvendo espectroscopia molecular de fluorescência.

Por exemplo, quando soluções contendo hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em concentrações-traço são submetidas à excitação, ocorre total relaxação vibracional e, conseqüentemente, a emissão monitorada será proporcional à concentração total das espécies em solução. À medida que a concentração das espécies cresce a emissão também aumenta de maneira proporcional. Entretanto, a partir de uma determinada concentração podem ocorrer a formação de exímeros e/ou fenômenos de auto-absorção. Exímeros são originados por meio da colisão interna de partículas e se comportam como uma espécie molecular distinta, apresentando propriedades luminescentes próprias, como por exemplo, sua fluorescência específica. A auto-absorção ocorre quando o espectro de absorção e o de fluorescência apresentarem superposição, mesmo que parcial. Neste caso, algumas espécies tornam-se capazes de reabsorver a radiação emitida a partir da relaxação vibracional de outras espécies em solução.

O comportamento observado na curva de supressão para a solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico comercial, na Figura 48, pode ser atribuído à ocorrência de algum destes fenômenos. No início da curva, nota-se um aumento relativo do sinal de emissão. Este comportamento indica que antes do início na titulação, onde  $I_0$  equivale a 100% de fluorescência, o sinal de emissão resultante pode ter sofrido supressão interna pela presença de exímeros ou por fenômenos de auto-absorção. A adição de cobre nesta solução, além de provocar a formação de compostos não-fluorescentes, pode também favorecer a redução dos fenômenos de auto-absorção e a formação de exímeros. Neste caso, pode ocorrer um aumento relativo da intensidade de fluorescência no início da curva de titulação, até o momento no qual a supressão interna provocada por ambos os fenômenos deixa de influenciar o sinal de emissão. A partir deste momento, a supressão do sinal de fluorescência é causada apenas pela complexação do metal. Ainda na Figura 48, nota-se que para a solução mais diluída de ácido húmico comercial a

supressão do sinal de fluorescência no início e durante toda a curva de titulação é decorrente apenas da adição do cobre.

O equipamento utilizado na fluorescência é composto por dois monocromadores ajustáveis que são responsáveis pelo isolamento dos comprimentos de onda da radiação incidente e da radiação emitida. Costuma-se empregar larguras de fenda de 5 nm para ambos os monocromadores. A diminuição da largura de fenda, para um dos monocromadores, provoca uma redução considerável da sensibilidade da técnica. O aumento da fenda no monocromador da radiação incidente, por outro lado, pode promover uma diminuição na resolução espectral, uma vez que a amostra sofrerá excitação por uma quantidade maior de radiações. Entretanto, o aumento da largura de fenda no monocromador de emissão pode provocar uma diminuição da resolução, mas também um aumento da sensibilidade da medida. A Figura 49 mostra espectros de emissão de fluorescência obtidos para uma solução de ácido húmico natural, extraído de uma amostra de solo segundo metodologia preconizada pelo IHSS, empregando diferentes parâmetros instrumentais.

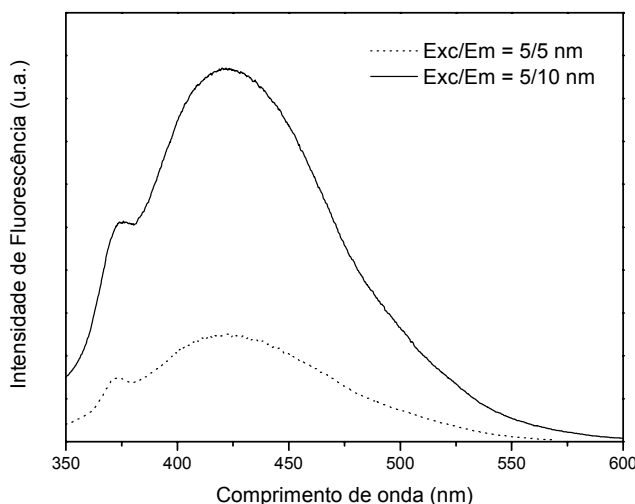


Figura 49. Espectros de emissão de fluorescência obtidos em uma solução  $30 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido húmico natural ( $\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$ ). O espectro representado por uma linha tracejada foi obtido empregando fendas de  $\text{Em/Exc} = 5/5 \text{ nm}$ . O espectro representado por uma linha contínua foi obtido com  $\text{Em/Exc} = 5/10 \text{ nm}$ .

Na Figura 49 são mostrados espectros de emissão de fluorescência em soluções de ácido húmico natural, excitadas a 330 nm, empregando diferentes ajustes nos monocromadores de excitação e emissão. Pode-se observar que a utilização de larguras de fenda de  $Em/Exc = 5/5$  nm apresenta uma intensidade de fluorescência relativa cerca de 3 vezes menor que o espectro obtido com fendas ajustadas em  $Em/Exc = 5/10$  nm. O aumento da largura de fenda de emissão promoveu uma maior sensibilidade, sem comprometer a resolução espectral.

Para verificar se existem diferenças com relação à curva de supressão empregando o cobre como agente titulante, foram desenvolvidos experimentos de titulação empregando as duas combinações de larguras de fenda. A Figura 50 mostra as curvas de supressão obtidas a partir da supressão de fluorescência de uma solução de ácido húmico natural titulada com cobre.

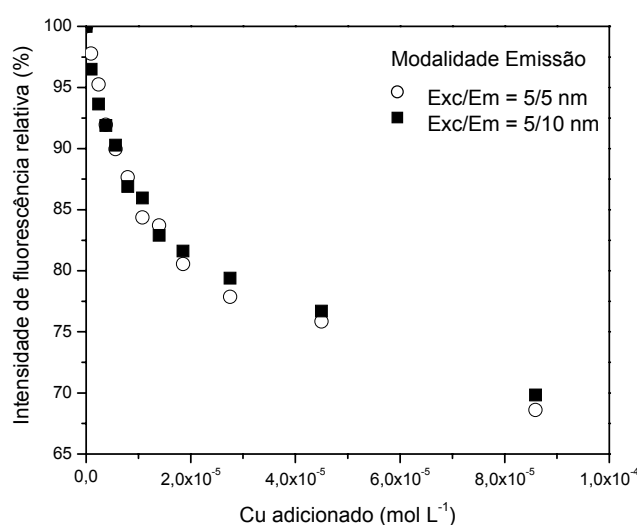


Figura 50. Curva de supressão de fluorescência para solução 30 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico natural frente ao cobre empregando diferentes parâmetros instrumentais e monitoramento do sinal analítico por fluorescência de emissão ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 330/425$  nm)

Observa-se, a partir da Figura 50, que não existe uma diferença significativa na disposição dos pontos nas curvas de titulação quando são empregados diferentes larguras de fenda de emissão. Isto indica que, para experimentos empregando a modalidade de fluorescência de emissão, este tipo

de variação na fenda de emissão pode ser empregado, principalmente, em soluções que apresentam baixas intensidades de fluorescência.

Na Figura 51 são mostradas curvas de titulação para a mesma amostra empregando-se fluorescência sincronizada e monitoramento do pico de máxima intensidade.

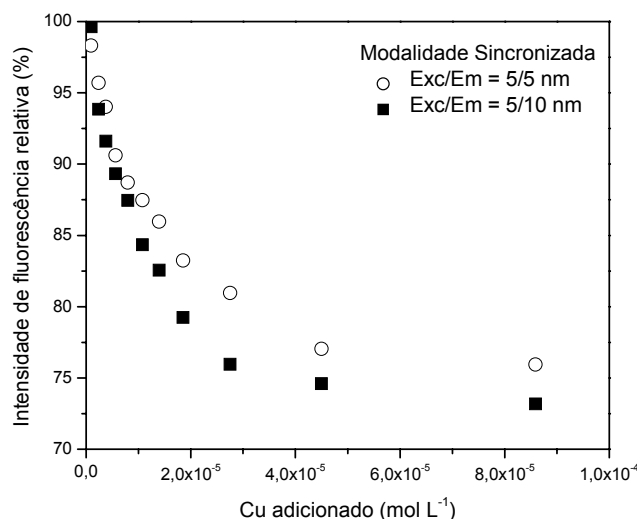


Figura 51. Curva de supressão de fluorescência para solução 30 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico natural frente ao cobre empregando diferentes parâmetros instrumentais e monitoramento do sinal analítico por fluorescência sincronizada ( $\Delta\lambda = 18$  nm). Pico de máxima intensidade centrado em 460 nm.

Ao contrário do comportamento observado na Figura 50, na qual a supressão de fluorescência foi avaliada empregando-se a modalidade de emissão, a disposição dos pontos na Figura 51 evidencia uma diferença significativa quando são ajustadas diferentes larguras de fenda de emissão e monitoramento do sinal máximo de fluorescência (460 nm) por espectroscopia de fluorescência sincronizada. Isto indica que apesar de oferecer uma maior sensibilidade, a alteração da largura de fenda não é indicada para obtenção de dados referentes à supressão de fluorescência, principalmente por meio da modalidade sincronizada. Desta forma, todos os experimentos apresentados a seguir foram realizados empregando-se larguras de fenda de excitação e emissão de 5 nm.

Após a otimização dos principais parâmetros experimentais e instrumentais, foram realizados testes preliminares para a avaliação da capacidade de complexação da matéria orgânica dissolvida em soluções de ácido húmico natural. A Figura 52 mostra espectros de fluorescência de emissão para uma solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico natural submetida à adição de quantidades crescentes de cobre.

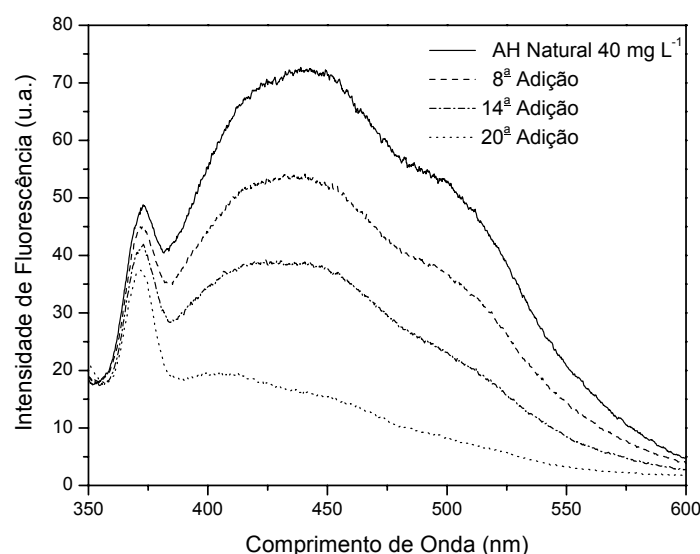


Figura 52. Espectros de emissão de fluorescência para uma solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico natural titulada com cobre.

Pode-se observar, a partir da Figura 52, que a adição de quantidades crescentes de cobre foi capaz de provocar a atenuação gradativa nos valores de intensidade de emissão para, praticamente, toda a faixa espectral. Os espectros foram obtidos com excitação em 330 nm e o pico de emissão máxima, cujo valor foi monitorado durante todo o procedimento experimental, apareceu em 450 nm.

Os resultados obtidos durante a titulação da amostra com cobre foram tratados empregando-se o modelo matemático desenvolvido por Ryan e Weber (1982a). A equação matemática é a seguinte:

$$I = \left( \frac{I_{ML} - 100}{2KC_L} \right) \left[ (KC_L + KC_M + 1) - \sqrt{(KC_L + KC_M + 1)^2 - 4K^2C_LC_M} \right] + 100 \quad (13)$$



onde  $I_{ML}$  representa um valor limitante de intensidade na qual a fluorescência não diminui em função da adição de metal, ou seja, a fluorescência residual;  $K$  indica a constante de estabilidade condicional para o complexo ML,  $C_L$  corresponde à concentração de sítios ligantes, ou seja, a capacidade de complexação e  $C_M$  é a concentração do metal adicionado.

A Figura 53 mostra a curva de titulação de uma solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico natural com cobre e a aplicação da equação 13 sobre os dados originais.

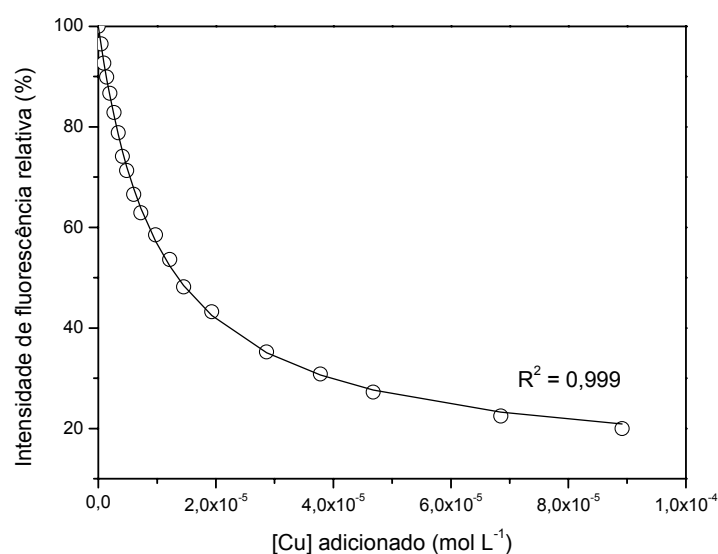


Figura 53. Curva de supressão de fluorescência para solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico natural frente ao cobre. Modalidade emissão ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 330/450$  nm). A linha cheia representa o ajuste da equação 13 sobre os dados.

A Figura 53 permite observar que o modelo empregado foi capaz de promover o ajuste dos dados originais, sendo que o coeficiente de correlação foi superior a 0,999. Neste caso, a linha cheia representa o melhor ajuste dos dados pelo modelo descrito na equação 13. Com base na curva de supressão, foi possível calcular os valores de  $I_{ML}$ ,  $C_L$  e  $K$  para a interação do cobre com o ácido húmico natural. Desta forma, o valor de Log  $K$  foi igual a 5,00,  $C_L$  foi de 650 nmol L<sup>-1</sup> e  $I_{ML}$  correspondeu a 12,45. Segundo Ryan e Weber (1982b), o valor de  $I_{ML}$  representa o limite da supressão de fluorescência da amostra e indica o momento

em que todos os sítios disponíveis encontram-se ocupados. Neste caso, o valor de  $I_{ML}$  mostra que 87,55% dos componentes orgânicos fluorescentes presentes na solução de ácido húmico foram capazes de complexar o cobre.

Após a aplicação do modelo descrito na equação 13, observou-se que o emprego da espectroscopia de fluorescência empregando o modo de emissão mostrou-se eficiente na identificação da interação do cobre com uma solução de ácido húmico. Para se obter diferentes parâmetros de complexação, relativos às diferentes estruturas orgânicas presentes em águas naturais, pode-se monitorar a supressão do sinal de fluorescência por meio da modalidade sincronizada (Silva *et al.*, 1998). Neste caso, o principal objetivo foi avaliar se a supressão do sinal de fluorescência decorrente da adição de metal pode ocorrer preferencialmente em determinadas regiões espectrais e que, desta maneira, pode ser atribuída a diferentes compostos orgânicos identificados no modo sincronizado. Para otimização deste procedimento foram conduzidos alguns ensaios referentes ao ajuste de parâmetros experimentais.

A Figura 54 apresenta espectros de fluorescência sincronizada para a mesma solução de ácido húmico natural submetida à adição de quantidades crescentes de cobre.

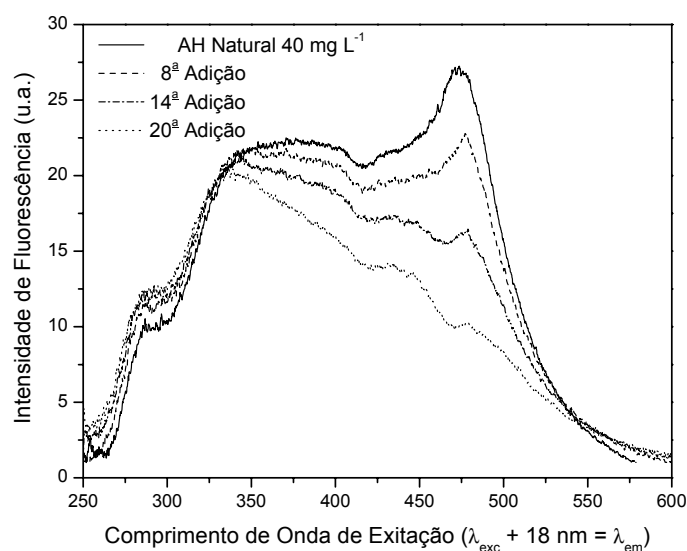


Figura 54. Espectros de fluorescência sincronizada para uma solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico natural titulada com cobre.

Nota-se que a adição de cobre foi capaz de provocar uma atenuação nos valores de emissão para toda a faixa espectral. Entretanto, observa-se que a supressão do sinal de fluorescência não se mostrou uniforme. No caso da Figura 54, a região centrada em 480 nm apresentou uma maior atenuação do sinal de emissão em comparação às demais regiões do espectro. Este comportamento pode indicar que espécies do tipo lignina, ou aquelas formadas por 7 anéis conjugados são os principais agentes complexantes na solução de ácido húmico. Com base nas intensidades de fluorescência centradas em 480 nm foi construída a curva de supressão apresentada na Figura 55.

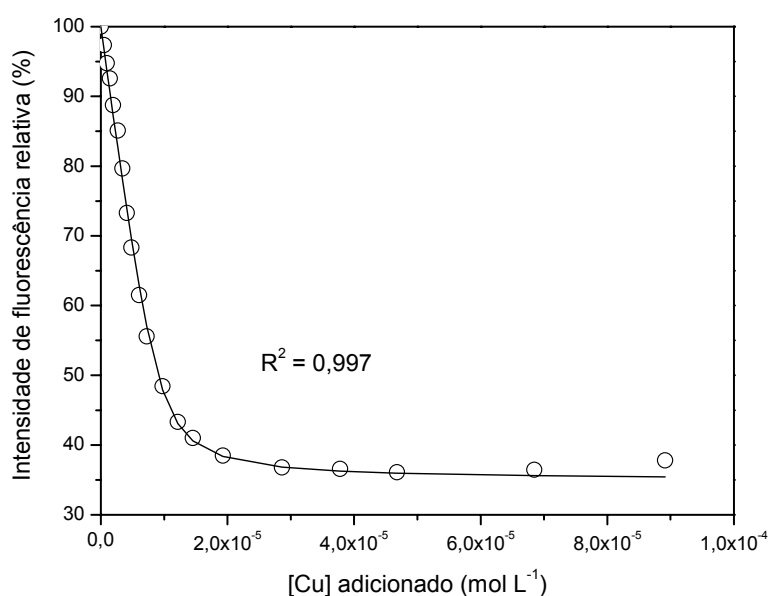


Figura 55. Curva de supressão de fluorescência para solução 40 mg L<sup>-1</sup> de ácido húmico natural frente ao cobre. Modalidade sincronizada ( $\Delta\lambda = 18$  nm)

A partir da curva mostrada na Figura 55, observa-se que a supressão do sinal de fluorescência em 480 nm foi mais intensa no início da titulação em comparação à curva de supressão obtida para a modalidade de emissão. A princípio, este comportamento pode indicar uma preferência do cobre em interagir com estruturas mais humificadas. Para o pico de fluorescência sincronizada centrado em 480 nm os parâmetros de complexação obtidos foram  $\text{Log } K = 6,24$ ,  $C_L = 9,3 \text{ mmol L}^{-1}$  e  $I_{ML} = 35,12$ .

### 3.9.2. Capacidade de complexação da MOD dos rios Iraí e Iguaçu frente ao cobre

Para avaliar a eficiência do método de determinação da capacidade de complexação por fluorescência proposto neste trabalho, amostras dos rios Iraí e Iguaçu coletadas em agosto de 2004 foram submetidas à titulação com cobre, monitorando-se do sinal de fluorescência empregando-se nos modos de emissão e sincronizado. A Figura 56 mostra a supressão do sinal de emissão de fluorescência em 425 nm para a matéria orgânica dissolvida do Rio Iraí.

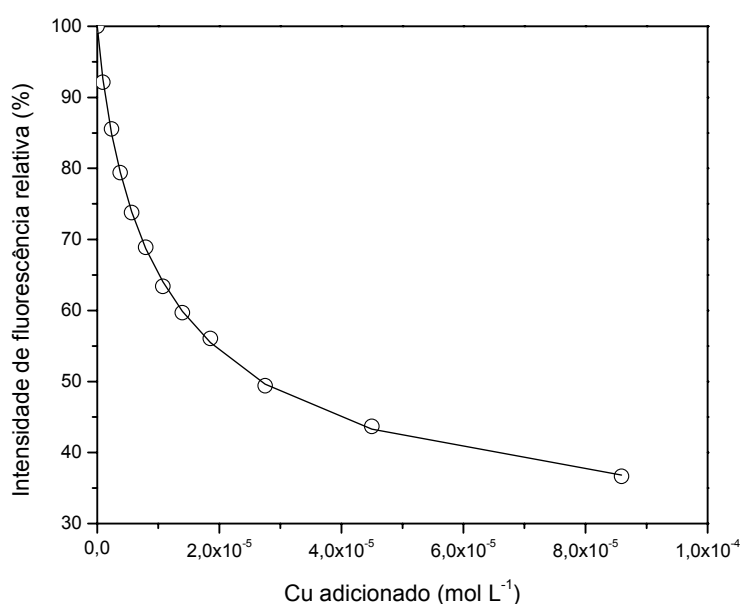


Figura 56. Curva de supressão de fluorescência para a matéria orgânica dissolvida do Rio Iraí frente ao cobre. Modalidade emissão ( $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 330/425$  nm)

Observa-se na Figura 56 a atenuação do sinal de emissão de fluorescência em 425 nm para a matéria orgânica dissolvida do Rio Iraí, excitada em 330 nm, em função da concentração de cobre adicionado à amostra. Neste caso a curva de supressão de fluorescência apresentou um comportamento típico esperado para a titulação de amostras naturais contendo matéria orgânica dissolvida (Seitz, 1981). O ajuste dos dados experimentais foi capaz de fornecer parâmetros de complexação entre o cobre a matéria orgânica natural do Rio Iraí. Desta forma, o valor de Log  $K$  foi igual a 4,83,  $C_L = 6,4$  mmol L<sup>-1</sup> e  $I_{ML} = 26,73$ . O

valor de  $I_{ML}$  indicou que mais de 73 % dos componentes orgânicos fluorescentes presentes no Rio Iraí foram capazes de complexar o cobre adicionado.

A supressão de fluorescência também foi avaliada no modo sincronizado. Neste caso, o objetivo principal foi verificar se esta modalidade pode ser empregada para diferenciar sítios de complexação entre o cobre e a matéria orgânica dissolvida natural presente no Rio Iraí. A Figura 57 mostra a supressão do sinal de fluorescência para diferentes estruturas orgânicas de acordo com a delimitação da faixa espectral sugerida por Peuravouri e colaboradores (2002).

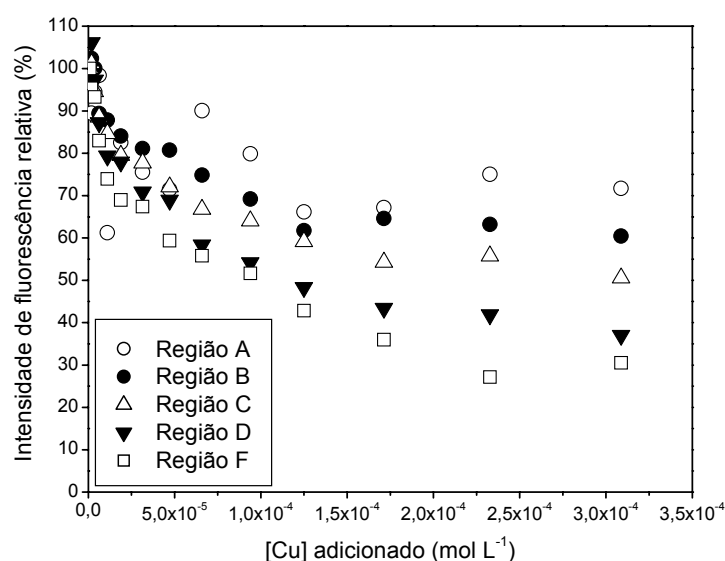


Figura 57. Curvas de supressão de fluorescência para a matéria orgânica dissolvida do Rio Iraí frente ao cobre para diferentes faixas espectrais. Modalidade sincronizada ( $\Delta\lambda = 18\ nm$ ). As regiões delimitadas no espectro são representadas por letras de acordo com Peuravouri e colaboradores (2002). Neste caso, A = 280 a 298 nm; B = 330 a 348 nm; C = 355 a 373 nm; D = 400 a 420 nm; F = 460 a 480 nm.

Observa-se na Figura 57 que a intensidade de fluorescência relativa na região A, centrada em 283 nm, não apresentou uma supressão uniforme durante o procedimento de titulação. Isto indica que estruturas alifáticas conjugadas não representam uma contribuição efetiva para a complexação do cobre nas águas do Rio Iraí. Por outro lado, as estruturas que contribuem para a fluorescência nas demais faixas espectrais apresentaram curvas de supressão bem definidas

durante todo o experimento de titulação com o cobre. A supressão do sinal na região B, que apresentou os maiores valores de intensidade de fluorescência absoluta, não mostrou uma elevada capacidade de complexação em comparação às demais regiões do espectro. A complexação foi mais efetiva nas regiões  $C < D < F$  indicando que policíclicos aromáticos de 3 a 7 anéis promovem a maior capacidade de complexação do cobre nas águas do Rio Iraí.

Em uma alíquota da fração dissolvida do Rio Iguaçu coletada em agosto de 2004 também foi realizada a titulação da matéria orgânica dissolvida natural com cobre. A supressão do sinal de fluorescência, monitorada por espectroscopia de emissão de fluorescência forneceu um valor de  $\text{Log } K = 4,57$ , após o ajuste do modelo descrito na equação 13 aos dados obtidos experimentalmente. Este valor é superior ao determinado para a amostra do Rio Iraí, indicando que existe podem existir diferenças entre as características da matéria orgânica de em ambos os rios. Para diferenciar os sítios de complexação do Rio Iguaçu também foi empregada a modalidade sincronizada. A Figura 58 mostra a supressão do sinal de fluorescência para diferentes regiões espectrais.

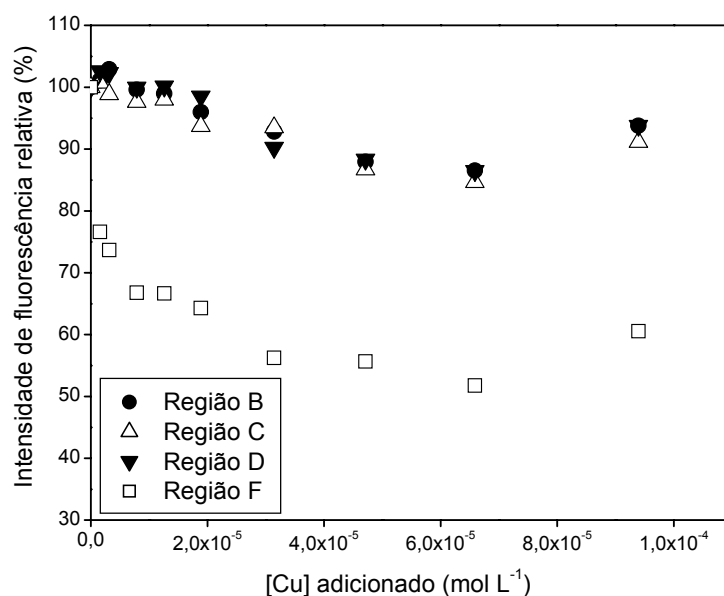


Figura 58. Curvas de supressão de fluorescência para a matéria orgânica dissolvida do Rio Iguaçu frente ao cobre para diferentes faixas espectrais. Modalidade sincronizada ( $\Delta\lambda = 18 \text{ nm}$ ).

Na Figura 58, observa-se que as intensidades de fluorescência relativas às regiões B, C e D não contribuem de maneira significativa para a complexação do cobre durante a titulação da amostra com o metal. O sinal de fluorescência nestas apresenta uma pequena atenuação a partir da metade do procedimento. Isto pode indicar que estruturas formadas por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com cerca de 2 a 5 anéis conjugados podem contribuir com a complexação do metal depois que outros sítios de complexação estejam parcialmente ocupados pelo cobre. Este comportamento pode indicar que nas águas do Rio Iguaçu existe uma maior variabilidade de substâncias orgânicas que apresentam fluorescência, mas não são capazes de complexar o cobre de maneira eficiente, como foi observado para a amostra do Rio Iraí. De fato, acredita-se que substâncias orgânicas que não apresentam capacidade de complexação podem surgir a partir do descarte de esgoto bruto nas águas deste rio a partir da RMC como foi observado na Figura 25. Entretanto, compostos orgânicos formados por sete anéis aromáticos conjugados, presentes na região F, foram capazes de complexar fortemente o cobre logo no início do procedimento, sendo que em seguida, o sinal de emissão apresentou um decaimento exponencial característico da complexação monitorada por fluorescência. As estruturas que fluorescem nesta região são os principais agentes complexantes nas águas do Rio Iguaçu, ao contrário do comportamento observado nas águas do Rio Iraí, onde estruturas contendo de três a sete anéis foram responsáveis pela complexação do cobre.

Cabaniss (1992) aplicou o modo sincronizado para avaliar a supressão do sinal de fluorescência decorrente da adição de  $\text{Cu}^{2+}$  em amostras do Rio White Oak (EUA) e observou supressão preferencial na região espectral centrada em 465 nm (Região F). Neste mesmo trabalho o autor verificou que o pH pode afetar a forma do espectro e a magnitude da supressão de fluorescência. Em pH 7,0 o pico centrado em 435 nm apresentou a maior intensidade de fluorescência, enquanto que em pH 5,0 os picos centrados em 395 e 465 nm, foram mais intensos. O pH da amostra também pode afetar os valores das constantes de estabilidade condicionais para interação entre o cobre e substâncias húmicas

aquáticas empregando-se fluorescência (Silva *et al.*, 1998; Cao *et al.*, 2004). Cao e colaboradores (2004) avaliaram a complexação do cobre em pH 4,00, 5,00 e 6,00 e observaram que os valores de Log *K* aumentam com o aumento do pH devido à dissociação de grupos funcionais ácidos. Alguns autores consideram impossível manter constante o pH durante a titulação da amostra com a espécie de interesse em experimentos empregando fluorescência (Lin *et al.*, 1995; Cao *et al.*, 2004). Neste caso, monitora-se apenas o valor inicial e final de pH durante o procedimento de titulação. Entretanto, é possível manter o pH constante manualmente a cada adição, (Hays *et al.*, 2003) ou por meio da adição de tampões inorgânicos (Silva *et al.*, 1998).

Neste trabalho, as amostras dos rios Iraí e Iguaçu foram tituladas em seu pH natural, ou seja, 6,88 para o Rio Iraí e 7,10 para o Rio Iguaçu, sendo que após a titulação com cobre, o pH final nas amostras apresentou uma diminuição inferior a 0,4 unidades de pH. Devido à similaridade entre os valores de pH para as amostras que foram submetidas à caracterização por fluorescência sincronizada, os resultados obtidos a partir do uso desta técnica podem ser comparados entre si sem a ocorrência de diferenças significativas devido ao efeito do pH.

A Tabela 9 mostra os parâmetros de complexação obtidos para amostras dos rios Iraí e Iguaçu frente ao cobre em diferentes épocas do ano e para diferentes regiões espectrais empregando-se a fluorescência sincronizada.

Tabela 9. Parâmetros de complexação para amostras dos rios Iraí e Iguaçu obtidos por fluorescência sincronizada em diferentes regiões espectrais.

	Região A		Região B		Região C		Região D		Região F	
	Log <i>K</i>	CC	Log <i>K</i>	CC	Log <i>K</i>	CC	Log <i>K</i>	CC	Log <i>K</i>	CC
Rio Iraí										
<i>Período Chuvoso</i>	5,49	*	4,60	28,5	4,60	28,5	4,39	42,8	4,82	40,7
<i>Menor Pluviosidade</i>	5,02	*	4,96	30,4	4,62	36,0	4,74	44,0	4,50	43,0
Rio Iguaçu										
<i>Período Chuvoso</i>	4,68	32,0	5,08	25,2	4,92	27,9	5,57	21,6	5,26	61,2
<i>Menor Pluviosidade</i>	-	-	5,33	*	5,37	*	5,13	*	5,66	65,9

Log *K*, logaritmo da constante de estabilidade condicional; CC capacidade de complexação em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . (-) Região espectral que não apresentou supressão de fluorescência; (\*) foram obtidos resultados incoerentes, porém ao fixar valores de CC entre  $10^{-7}$  e  $10^{-5}$  mol  $\text{L}^{-1}$  não foram observadas diferenças no cálculo dos demais parâmetros.



A Tabela 9 permite observar que as amostras do Rio Iraí apresentaram valores de  $\text{Log } K$  de 4,39 a 4,82 durante o período chuvoso e de 4,50 a 5,02 durante o período de menor pluviosidade considerando-se a contribuição de todas as faixas espectrais avaliadas. No Rio Iguaçu os valores de  $\text{Log } K$  durante o período chuvoso variaram entre 4,68 a 5,57 e entre 5,13 a 5,66 durante o período de menor pluviosidade. Estes resultados mostram que existem diferenças, tanto para amostras de um mesmo rio coletadas em diferentes épocas do ano, quanto para amostras de rios diferentes coletadas no mesmo período. De uma maneira geral, foram observados valores superiores de  $\text{Log } K$  para as amostras do Rio Iguaçu em comparação aos resultados obtidos para o Rio Iraí em todas as regiões espectrais avaliadas para ambas as épocas do ano. Estes resultados são compatíveis àqueles obtidos por potenciometria (Figura 34) na qual o sítio responsável pela formação de complexos mais estáveis apresentou valores de  $\text{Log } K$  entre 6,58 a 8,18 para as amostras do Rio Iguaçu e entre 6,00 e 6,78 para as amostras do Rio Iraí. Pode-se observar, entretanto, que os valores de  $\text{Log } K$  obtidos por potenciometria são superiores aos obtidos por supressão de fluorescência. Isto ocorre, principalmente, devido às diferentes faixas de concentração de cobre utilizadas para a titulação das amostras e obtenção dos parâmetros de complexação empregando-se as duas técnicas. Cao e colaboradores (2004) observaram que as constantes de ligação obtidas por voltametria de redissolução anódica foram superiores àquelas determinadas por supressão de fluorescência devido a concentrações mais elevadas de cobre empregadas durante a titulação empregando fluorescência. Neste mesmo trabalho, os autores determinaram valores de  $\text{Log } K$  similares empregando voltametria e potenciometria sob mesmas condições de concentração de cobre.

Neste trabalho, a partir dos resultados obtidos por potenciometria para as amostras dos rios Iguaçu e Iraí, não foi possível estabelecer um efeito sazonal com relação aos valores de  $\text{Log } K_1$  e  $\text{Log } K_2$ . Entretanto, empregando-se fluorescência sincronizada, pode-se observar que, para ambos os rios, as amostras coletadas durante o período de menor pluviosidade apresentaram valores superiores de  $\text{Log } K$ . Segundo Cao e colaboradores (2004), os parâmetros

que mais influenciam os valores de  $K$  são o pH, a força iônica e a natureza e concentração dos sítios de ligação. Acredita-se que a pequena diferença entre os valores de pH das amostras dos rios Iraí e Iguaçu não foi capaz de determinar uma diferença significativa nos valores de  $\log K$  entre os dois rios. Da mesma forma, diferenças com relação à força iônica não devem ser levadas em consideração uma vez que todos os experimentos de titulação foram conduzidos sob força iônica semelhante e igual a  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KNO}_3$ . Desta forma, acredita-se que a natureza e a concentração de ligantes são os principais parâmetros responsáveis pela variabilidade dos resultados. De fato, a partir dos espectros de fluorescência mostrados nas Figuras 43 e 44 foi observado que existem diferenças marcantes com relação à concentração e constituição da MOD de ambos os rios nas diferentes épocas do ano, sendo que a amostra Rio Iguaçu coletada durante o período de menor pluviosidade apresentou valores superiores de intensidade de emissão de fluorescência e também de fluorescência no modo sincronizado. No caso do Rio Iraí, apesar dos espectros de emissão apresentarem um comportamento similar (Figura 43), foi possível verificar que existem diferenças com relação aos espectros de fluorescência sincronizado quando são comparados os dois períodos de amostragem.

Ainda na Tabela 9, são mostrados valores obtidos para a capacidade de complexação para amostras de ambos os rios e para regiões espectrais distintas empregando-se o modo sincronizado. Considerando-se apenas as amostras do Rio Iraí, pode-se observar valores sistematicamente superiores para a amostra coletada no período de menor pluviosidade em comparação à amostra coletada no período chuvoso. No caso do Rio Iguaçu, apenas os valores de CC para a Região F podem ser comparados entre si, pois não foram obtidos os valores de CC para as demais regiões espectrais na amostra coletada durante o período de menor pluviosidade. Esta imprecisão associada à determinação de CC a partir do modelo proposto por Ryan e Weber (1982a) está associada a limitações da regressão não-linear que podem ocorrer quando a concentração de sítios ligantes e/ou a constante de estabilidade condicional é relativamente baixa (Machado *et al.*, 1994 e Silva *et al.*, 1998). Entretanto, mesmo quando o valor de CC é fixado, os

resultados obtidos para  $\text{Log } K$  e  $I_{\text{ML}}$ , assim como a qualidade da regressão, não são afetadas (Silva *et al.*, 1998). Desta forma, a imprecisão da regressão não-linear para a amostra do Rio Iguaçu coletada no período de menor pluviosidade está associada, exclusivamente, a baixos valores de CC para as regiões espectrais B, C e D, uma vez que, para estas regiões, foram obtidos valores superiores de  $\text{Log } K$ .

Figura 59 mostra a variação dos valores obtidos para os parâmetros de complexação CC e  $\text{Log } K_{\text{ML}}$  nas amostras do Rio Iraí coletadas em diferentes épocas do ano.

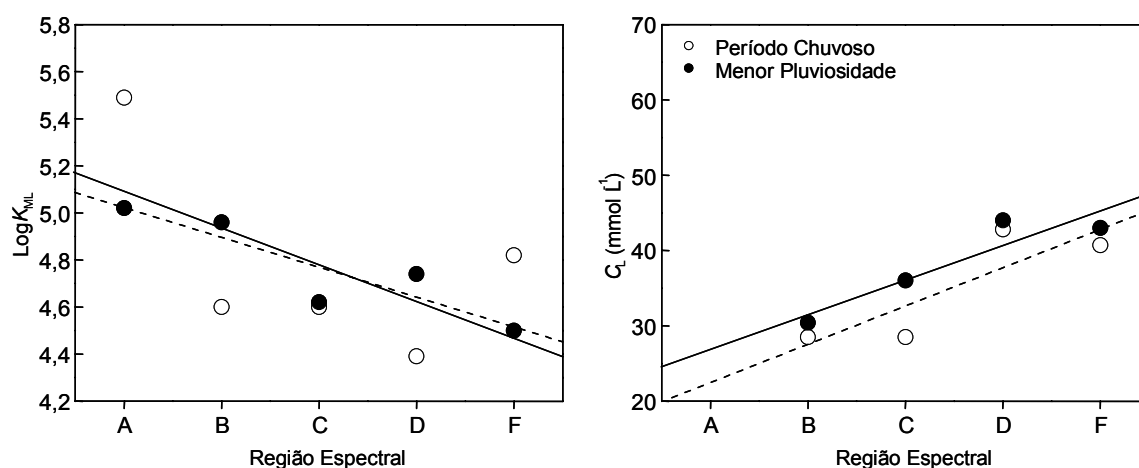


Figura 59. Variação dos parâmetros de complexação obtidos para amostras do Rio Iraí em função da região espectral empregando-se fluorescência sincronizada

Os resultados mostrados na Figura 59 evidenciam que, nas amostras do Rio Iraí, existem similaridades com relação à variação dos parâmetros de complexação estudados em função das regiões espectrais delimitadas a partir de espectros de fluorescência sincronizada. Apesar da variação dos valores de  $\text{Log } K_{\text{ML}}$  para as amostras deste rio, mostrada na Tabela 11, pode-se notar que, para ambos os períodos do ano, os valores de  $\text{Log } K_{\text{ML}}$  diminuem em função do aumento da região do espectro, ou seja, da complexidade das estruturas orgânicas. Além disso, observa-se que os valores de capacidade de complexação aumentam em função do aumento da complexidade das estruturas orgânicas fluorescentes.

Estes resultados mostram que na matéria orgânica dissolvida do Rio Iraí os grupos funcionais que formam complexos mais estáveis com o cobre encontram-se em menor concentração e, predominantemente, associados a estruturas mais simples. Por outro lado, valores mais elevados de capacidade de complexação são decorrentes de grupos funcionais que formam metalo-complexos menos estáveis e que são encontrados em maiores quantidades nas substâncias orgânicas de maior complexidade do ponto de vista da estrutura química. Mesmo apresentando graus de complexação distintos, pode-se observar que, de uma maneira geral, todas as estruturas orgânicas presentes na MOD do Rio Iraí são capazes de complexar o cobre. Estes resultados corroboram as hipóteses levantadas com relação à variação dos valores de capacidade de complexação das amostras do Rio Iraí, obtidos por potenciometria, em função do teor de COD (Figura 36) onde foi observado que os ligantes disponíveis à complexação do metal na fração dissolvida são decorrentes, principalmente, da matéria orgânica deste rio.

A Figura 60 mostra os resultados obtidos para os parâmetros de complexação CC e  $\text{Log } K_{ML}$  em função das regiões delimitadas nos espectros de fluorescência sincronizada de amostras do Rio Iguaçu representativas dos períodos de maior e menor pluviosidade.

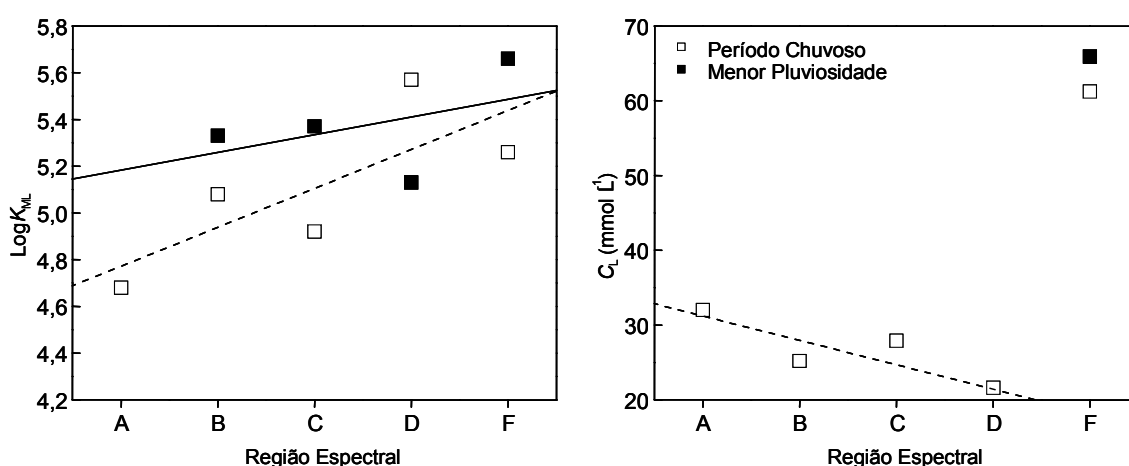


Figura 60. Variação dos parâmetros de complexação obtidos para amostras do Rio Iguaçu em função da região espectral empregando-se fluorescência sincronizada

Ao contrário do comportamento observado nas amostras do Rio Iraí, a Figura 60 mostra que nas amostras do Rio Iguaçu os valores de  $\text{Log } K_{\text{ML}}$  aumentam em função da complexidade das estruturas orgânicas evidenciando que complexos mais estáveis são formados pela interação entre o metal e os grupos funcionais presentes em estruturas mais aromáticas. Além disso, observa-se que os valores de capacidade de complexação também aumentam em função do aumento da complexidade das estruturas orgânicas fluorescentes, considerando-se principalmente os valores determinados para a Região F. Acredita-se, portanto, que apenas as estruturas orgânicas responsáveis pela fluorescência na Região F são, efetivamente, responsáveis pela complexação do cobre neste rio em ambos os períodos.

Na Figura 61 é mostrada a variação de  $I - I_{\text{ML}}$ , em termos percentuais, obtidos em diferentes regiões do espectro sincronizado para amostras dos rios Iraí e Iguaçu coletadas em diferentes épocas do ano. A relação  $I - I_{\text{ML}}$  representa a porcentagem de estruturas fluorescentes que complexam o cobre nas amostras.

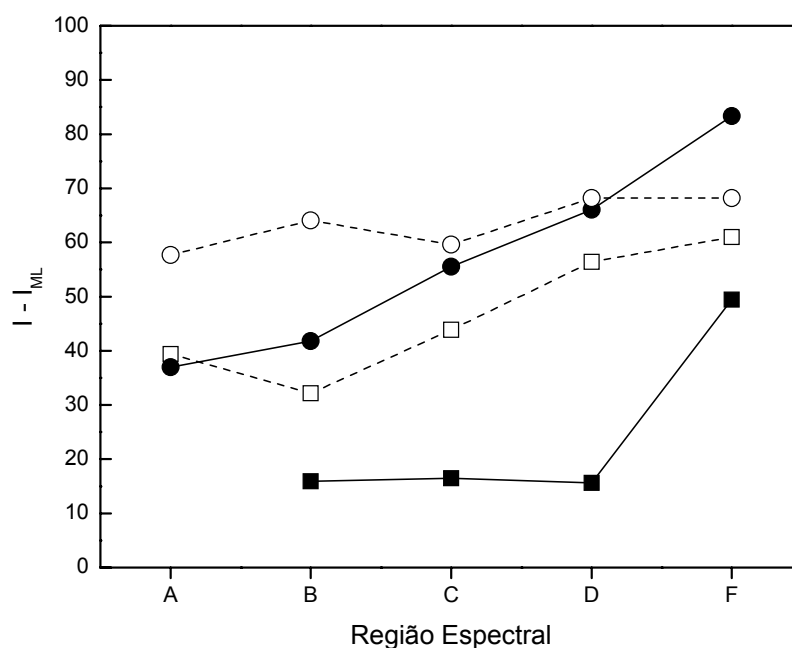


Figura 61. Valores de  $I - I_{\text{ML}}$  obtidos para diferentes regiões espectrais empregando-se o modo sincronizado. Quadrados representam amostras do Rio Iguaçu e círculos, amostras do Rio Iraí; símbolos cheios indicam amostras coletadas no período de menor pluviosidade e símbolos abertos às amostras coletadas no período chuvoso.

A Figura 61 evidencia comportamentos distintos com relação aos valores de  $I-I_{ML}$  para amostras de ambos os rios e também com relação às amostras coletadas em diferentes épocas do ano. Nota-se que, para a amostra do Rio Iguaçu coletada no período de menor pluviosidade, para as regiões B, C e D os valores de  $I_{ML}$  apresentaram-se constantes. Este resultado indica que cerca de 16% dos compostos responsáveis pela fluorescência nestas Regiões encontram-se disponíveis para complexação com o cobre. Para a Região F desta mesma amostra observa-se que o valor de  $I-I_{ML}$  sofre um aumento significativo onde mais de 50% dos compostos orgânicos fluorescentes encontram-se disponíveis para complexar o metal. Apesar do espectro sincronizado desta amostra ter apresentado valores superiores de intensidade de fluorescência em comparação às demais amostras (Figura 44), nem todos os compostos orgânicos presentes no Rio Iguaçu durante o período de menor pluviosidade oferecem sítios disponíveis à interação com espécies metálicas. Acredita-se que este comportamento pode ser explicado pela presença de matéria orgânica de origem antropogênica que surge a partir da descarga de esgoto bruto ou tratado a partir da Região Metropolitana de Curitiba. De fato, foi mostrado a partir de dados de capacidade de complexação obtidos por potenciometria em função da concentração de COD (Figura 34) que não existe uma correlação direta entre estes parâmetros, sugerindo a presença de compostos orgânicos que contribuem para um aumento da carga de matéria orgânica no Rio Iguaçu, mas não possuem capacidade de complexar o cobre. Este comportamento também foi observado por Xue e colaboradores (1996) que atribuíram à presença de matéria orgânica de origem antropogênica comportamentos anômalos com relação à complexação do cobre em águas superficiais. Observa-se que, ao contrário do comportamento observado no período de menor pluviosidade, no período chuvoso houve um maior efeito de complexação proporcional ao aumento da complexidade das estruturas orgânicas presentes no Rio Iguaçu. Neste caso substâncias húmicas formadas por cerca de 7 anéis conjugados contribuíram com cerca de 60% de grupos funcionais capazes de complexar o cobre.

Para as amostras do Rio Iraí observa-se que durante o período chuvoso todas as estruturas orgânicas fornecem entre 60 a 70% de sítios disponíveis para interação com o cobre enquanto que durante o período de menor pluviosidade existe uma maior distinção entre as estruturas orgânicas capazes de complexar o cobre. Neste caso, aminoácidos aromáticos ou estruturas alifáticas conjugadas contribuem com cerca de apenas 35% de sítios de ligação enquanto que estruturas formadas por 7 anéis conjugados podem contribuir com mais de 80% dos sítios de complexação.

#### 4. CONCLUSÕES

O procedimento de digestão de amostras de águas naturais, com base em processo fotoquímico assistido por microondas, desenvolvido neste trabalho mostrou-se eficiente na obtenção das concentrações de cobre na amostra *in natura* e na fração dissolvida. A digestão da fração dissolvida foi alcançada em apenas 6 minutos, enquanto que a da amostra *in natura* não necessitou mais que 12 minutos. Estes experimentos não evidenciaram qualquer perda ou contaminação das amostras durante o processo.

Com base nos resultados obtidos após doze campanhas de amostragem de águas nos rios Iraí e Iguaçu foi possível observar um grau mais elevado de deterioração da qualidade das águas do Rio Iguaçu devido aos efeitos do processo de urbanização. Neste rio foram observadas concentrações superiores de cobre, cloreto, carbono orgânico dissolvido, sólidos suspensos, assim como valores mais elevados de alcalinidade.

Por meio da análise de componentes principais foram identificadas as principais fontes de aporte do cobre nas águas dos rios estudados. Fontes difusas representaram as principais formas de aporte de cobre para ambos os rios durante o período de menor precipitação. Por outro lado, fontes pontuais, principalmente associadas ao descarte de esgoto bruto e tratado, foram as principais fontes de aporte do cobre para o Rio Iguaçu, especialmente no período de menor pluviosidade.

Os resultados obtidos para a distribuição do cobre nas águas de ambos os rios revelaram que no Rio Iraí o metal permaneceu preferencialmente na fração dissolvida, enquanto que no Rio Iguaçu, níveis mais elevados do cobre foram encontrados na fração particulada. No Rio Iraí, a presença de quantidades mais elevadas de colóides inorgânicos foi importante para a permanência do metal na fase solúvel, enquanto que no Rio Iguaçu, a existência de material particulado orgânico rico em substâncias húmicas favoreceu os processos de adsorção do cobre.

A avaliação da capacidade de complexação dos rios frente ao cobre mostrou a presença ligantes mais estáveis nas amostras do Rio Iguaçu e



evidenciou uma maior similaridade entre os sítios de complexação nas amostras do Rio Iraí. Entretanto, a avaliação da concentração de sítios ligantes em função do teor de carbono orgânico dissolvido para ambos os rios revelou a presença de matéria orgânica de baixa reatividade nas amostras do Rio Iguaçu.

A partir de experimentos baseados na espectrofotometria de fluorescência molecular, foi possível identificar diferenças quanto às características dos ligantes orgânicos presentes na fração dissolvida de ambos os rios. Neste caso, também foi observada a presença de matéria orgânica de baixa reatividade nas amostras do Rio Iguaçu, principalmente durante o período de menor precipitação. Desta forma, acredita-se que o descarte de esgoto a partir da região mais urbanizada contribui para a presença de diferentes tipos de matéria orgânica nas águas do Rio Iguaçu

Finalizando, os resultados gerados neste trabalho foram importantes para a compreensão dos fatores que afetam o comportamento dinâmico do cobre em rios localizados em áreas urbanas. Além de contribuir para o aumento na concentração do cobre em águas naturais, o processo de urbanização também foi responsável por alterações na distribuição do metal na coluna de água. A presença de matéria orgânica particulada a jusante da região mais urbanizada provocou a transferência do cobre da fase solúvel para a fase sólida. Este fenômeno pode ser responsável pela alteração do tempo de residência hidrológica do cobre, contribuindo para o enriquecimento dos sedimentos com este e outros metais. Estas observações são importantes na medida em que processos que ocorrem na interface água/sedimento e aspectos hidrológicos indicam que o sedimento pode atuar como fonte perene de cobre para a coluna de água.

## 5. REFERÊNCIAS

- Abate, G.; Masini, J. C. Utilização de eletrodos potenciométricos de amálgama de mercúrio em estudos de complexação de substâncias húmicas. *Quim. Nova.* 22:661-665, 1999.
- Abril, G.; Frankignoulle, M. Nitrogen-alkalinity interactions in the highly polluted Scheldt basin (Belgium). *Water Res.* 35:844-50, 2001.
- Achterberg, E. P.; Braungardt, C. B.; Sandford, R. C.; Worsfold, P. J. UV digestion of seawater samples prior to the determination of copper using flow injection with chemiluminescence detection. *Anal. Chim. Acta* 440:27-36, 2001.
- Achterberg, E. P.; van den Berg, C. M. G. In-line ultraviolet-digestion of natural water samples for trace metal determination using an automated voltammetric system. *Anal. Chim. Acta* 291:213-232, 1994.
- Allen, H. E.; Hansen, D. J. The importance of trace metal speciation to water quality criteria. *Water Environ. Res.* 68:42-52, 1996.
- Alonso, E.; Santos, A.; Callejón, M.; Jiménez, J. C. Speciation as a screening tool for the determination of heavy metal surface water pollution in the Guadiamar river basin. *Chemosphere* 56:561-570, 2004.
- Antelo, J. M.; Arce, F.; Penedo, F. J. Effect of seasonal changes on the complexing of Cu(II) by dissolved organic matter in river water. *Water Res.* 32:2714-2720, 1998.
- Aoustin, E.; Schäfer, A. I.; Fane, A. G.; Waite, T. D. Ultrafiltration of natural organic matter. *Sep. Purif. Technol.* 22-23:63-78, 2001.
- APHA, AWWA, WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater.* 19ed, Washington DC, 1995.
- Baker, A. Fluorescence excitation-emission matrix characterization of river waters impacted by a tissue mill effluent. *Environ. Sci. Technol.* 36:1377-1382, 2002.
- Barančíková, G.; Senesi, N.; Brunetti, G. Chemical and spectroscopy characterization of humic acids isolated from different Slovak soil types. *Geoderma* 78:251-266, 1997.
- Barrett, M. E.; Irish, L. B.; Malina, J. F.; Charbeneau, R. J. Characterization of highway runoff in Austin, Texas, area. *J. Environ. Eng.* 124:131-137, 1998.
- Bengraïne, K.; Marhaba, T. F. Using principal component analysis to monitor spatial and temporal changes in water quality. *J. Haz Mater.* 100:179-195, 2003.
- Benoit, G.; Hunter, K. S.; Rozan, T. F. Sources of trace metal contamination artifacts during collection, handling, and analysis of freshwaters. *Anal. Chem.* 69:1006-1011, 1997.
- Benoit, G.; Oktay-Marshall, S. D.; Cantu II, A.; Hood, E. M.; Coleman, C. H.; Corapcioglu, M. O.; Santschi, P. H. Partitioning of Cu, Pb, Ag, Zn, Fe, Al and Mn between filter-retained particles, colloids, and solution in six Texas estuaries. *Mar. Chem.* 45:307-336, 1994.
- Benoit, G.; Rozan, T. F. The influence of size distribution on the particle concentration effect and trace metal partitioning in rivers. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 63:113-127, 1999.
- Bianchini, A.; Bowles, K. C. Metal sulfides in oxygenated aquatic systems: implications for the biotic ligand model. *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.* 133:51-64, 2002.
- Boller, M. Toward sustainable urban stormwater management. *EWAG News* 57:23-28, 2003.
- Boller, M.; Steiner, M. Diffuse emission and control of copper in urban surface runoff. *Water Sci. Technol.* 46:173-181, 2002.

- Botelho, C. M. S.; Boaventura, R. A. R.; Gonçalves, M. D. S. S. Copper complexation with soluble and surface freshwaters ligands. *Electroanal.* 14:1713-1721, 2002.
- Bott, A. W. Voltammetric determination of trace concentrations of metals in the environment. *Current Sep.* 14:24-30, 1995.
- Brown, G. E.; Henrich, V. E.; Casey, W. H.; Clark, D. L.; Eggleston, C.; Felmy, A.; Goodman, D. W.; Gratzel, M.; Maciel, G.; McCarthy, M. I.; Nealson, K. H.; Sverjensky, D. A.; Toney, M. F.; Zachara, J. M. Metal oxide surfaces and their interactions with aqueous solutions and microbial organisms. *Chem. Rev.* 99:77-174, 1999.
- Brown, P. L.; Markich, S. J. Evaluation of the free ion activity model of metal-organism interaction: extension of the conceptual model. *Aquat. Toxicol.* 51:177-194, 2000.
- Brown, V. M.; Shaw, T. L.; Shurben, D. G. Aspects of water quality and the toxicity of copper to rainbow trout. *Water Res.* 8:797-803, 1974.
- Bruland, K. W.; Donat, J. R.; Hutchins, D. A. Interactive influences of bioreactive trace metals on biological production in oceanic waters. *Limnol. Oceanogr.* 36:1555-1557, 1991.
- Bruland, K. W.; Rue, L.; Donat, J. R.; Skrabal, S. A.; Moffett, J. W. Intercomparison of voltammetric techniques to determine the chemical speciation of dissolved copper in a coastal seawater sample. *Anal. Chim. Acta.* 405:99-113, 2000.
- Buffle, J. *Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach*. Ellis Horwood Series in Analytical Chemistry, Nova Iorque, 1990.
- Bunce, N. *Environmental Chemistry*, 2ed. Wuerz Publishing Ltd, Winnipeg, 1994.
- Burba, P.; Aster, B.; Nifant'eva, T.; Shkinev, V.; Spivakov, B. Y. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview Part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration. *Talanta* 45:977-988, 1998.
- Buxton, G.V., Greenstock, C.L., Helman, W.P., Ross, A.B. Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons hydrogen atoms and hydroxyl radicals ( $\text{OH}^\bullet/\text{O}^\bullet$ ) in aqueous solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 17:513-886, 1988.
- Cabaniss, S. E. Synchronous fluorescence spectra of metal-fulvic acid complexes. *Environ. Sci. Technol.* 26:1133-1139, 1992.
- Cabaniss, S. E.; Shuman, M. S. Copper binding by dissolved organic matter: I. Suwannee River fulvic acid equilibria. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 52:185-193, 1988.
- Campbell, P. C. G. Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. In: Tessier, A.; Turner, D. (Ed), *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. IUPAC Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems, John Wiley & Sons, Chichester, p45-102, 1995.
- Campos, M. L. A. M.; Bendo, A.; Viel, F. Métodos de baixo custo para purificação de reagentes e controle da contaminação para determinação de metais traços em águas naturais. *Quim. Nova* 25:808-813, 2002.
- Campos, M. L. A. M.; Mello, L. G.; Zanette, D. R.; Sierra, M. M. S.; Bendo, A. Construção e otimização de um reator de baixo custo para a fotodegradação da matéria orgânica em águas naturais e sua aplicação no estudo da especiação do cobre por voltametria. *Quim. Nova* 24:257-261, 2001.
- Campos, M. L. A. M.; van den Berg, C. M. G. Determination of copper complexation in sea-water by cathodic stripping voltammetry and ligand competition with salicylaldoxime. *Anal. Chim. Acta.* 284:481-496, 1994.
- Cao, J.; Lam, K. C.; Dawson, R. W.; Liu, W. X.; Tao, S. The effect of pH, ion strength and reactant content on the complexation of  $\text{Cu}^{2+}$  by various natural organic ligands from water and soil in Hong Kong. *Chemosphere* 54:507-514, 2004.

- Chakoumakos, C.; Russo, R. C.; Thurston, R. V. Toxicity of copper to cutthroat trout (*Salmo clarki*) under different conditions of alkalinity, pH, and hardness. *Environ. Sci. Technol.* 13:213-219, 1979.
- Chebbo, G.; Gromaire, M. C. The experimental urban catchment 'Le Marais' in Paris: what lessons can be learned from it? *J. Hydrol.* 299:312-323, 2004.
- Chen, J.; Gu, B.; LeBoeuf, E. J.; Pan, H.; Dai, S. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. *Chemosphere* 48:59-68, 2002.
- Chen, J.; LeBoeuf, E. J.; Dai, S.; Gu, B. Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions. *Chemosphere* 50:639-647, 2003.
- Church, T. M. Trace metals: How are trace metals transported and processed in Delaware Bay. *Delaware Estuary Situation Rep.* 1-8, 1994.
- Církva, V.; Hájek, M. Microwave photochemistry. Photoinitiated radical addition of tetrahydrofuran to perfluorohexylethene under microwave irradiation. *J. Photochem. Photobiol., A.* 123:21-23, 1999.
- Coble, P. G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission spectroscopy. *Mar. Chem.* 51:325-346, 1996.
- COMEC. *Relatório ambiental da Região Metropolitana de Curitiba*, Governo do Estado do Paraná, Curitiba. 1997.
- Conama. Resolução 020-1986. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente [<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res2086.html>], 1986.
- Conama. Resolução 357-2005. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente [<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>], 2005.
- D'Arcy, B.; Frost, A. The role of best management practices in alleviating water quality problems associated with diffuse pollution. *Sci. Total Environ.* 265:359-367, 2001.
- Dahlén, J.; Bäckström, M.; Ephraim, J.; Borén, H.; Allard, B. Determination of the molecular weight of fulvic acids by UV-VIS spectroscopy. *Chemosphere* 38:783-794, 1999.
- Davis, A. P.; Shokouhian, M.; Ni, S. Loading estimates of lead, copper, cadmium and zinc in urban runoff from specific sources. *Chemosphere.* 44:997-1009, 2001.
- Donat, J. R.; Lao, K. A.; Bruland, K. W. Speciation of dissolved copper and nickel in South San Francisco Bay: a multi-method approach. *Anal. Chim. Acta.* 284:547-571, 1994.
- Eisma, D.; Kalf, J.; Veenhuis, M. The formation of small particles and aggregates in the Rhine estuary. *Neth. J. Sea Res.* 14:172-191, 1980.
- Ellis, J. B.; Deutsch, J. C.; Mouchel, J. M.; Scholes, L.; Revitt, M. D. Multicriteria decision approaches to support sustainable drainage options for the treatment of highway and urban runoff. *Sci. Total Environ.* 334-335:251-260, 2004.
- Estèbe, A.; Boudries, H.; Mouchel, J. M.; Thevenot, D. R. Urban runoff impacts on particulate metal and hydrocarbon concentrations in river seine: Suspended solid and sediment transport. *Water Sci. Technol.* 36:185-193, 1997.
- Florence, T. M. The speciation of trace elements in waters. *Talanta* 29:345-364, 1982.
- Florence, T. M.; Lumsden, B. G.; Fardy, J. J. Evaluation of some physico-chemical techniques for the determination of the fraction of dissolved copper toxic to the marine diatom *Nitzschia closterium*. *Anal. Chim. Acta* 151:281-295, 1983.
- Florian, D.; Knapp, G. High-temperature, microwave-assisted UV digestion: A promising sample preparation technique for trace element analysis. *Anal. Chem.* 73:1515-1520, 2001.
- Frimmel, F. H. Characterization of natural organic matter as major constituents in aquatic systems. *J. Contam. Hydrol.* 35:201-216, 1998.

- Fuchs, S.; Haritopoulou, T.; Schäfer, M.; Wilhelmi, M. Heavy metals in freshwater ecosystems introduced by urban rainwater runoff: Monitoring of suspended solids, river sediments and biofilms. *Water Sci. Technol.* 36:277-282, 1997.
- Geckeis, H.; Manh, T. N.; Bouby, M.; Kim, J. I. Aquatic colloids relevant to radionuclide migration: characterization by size fractionation and ICP-mass spectrometric detection. *Colloid Surf., A* 217:101-108, 2003.
- Gerringa, L. J. A.; Hummel, H.; Moerdijk-Poortvliet, T. C. W. Relations between free copper and salinity, dissolved and particulate organic carbon in the Oosterschelde and Westerschelde, Netherlands. *J. Sea Res.* 40:193-203, 1998.
- Gonçalves, A. C.; Luchese, E. B.; Lenzi, E. Avaliação da fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e cromo, em soja cultivada em latossolo vermelho escuro tratado com fertilizantes comerciais. *Quim. Nova.* 23:173-177, 2000.
- Goonetilleke, A.; Thomas, E.; Ginn, S.; Gilbert, D. Understanding the role of land use in urban stormwater quality management. *J. Environ. Manage.* 74:31-42, 2005.
- Grassi, M. T. As águas do planeta Terra. *Cadernos Temáticos Quim Nova Escola.* 4:31-40, 2001.
- Grassi, M. T.; Shi, B.; Allen, H. E. Partition of copper between dissolved and particulate phases using aluminum oxide as an aquatic model phase: Effects of pH, solids and organic matter. *J. Braz. Chem. Soc.* 11:516-524, 2000.
- Grzybowski, W. Comparison between stability constants of cadmium and lead complexes with humic substances of different molecular weight isolated from Baltic Sea water. *Oceanol.* 42:473-482, 2000.
- Gundersen, P.; Olsvik, P. A.; Steinnes, E. Variations in heavy metal concentrations and speciation in two mining-polluted streams in central Norway. *Environ. Toxicol. Chem.* 20:978-984, 2001.
- Gundersen, P.; Steinnes, E. Influence of pH and TOC concentrations on Cu, Zn, Cd and Al speciation in rivers. *Water Res.* 37:307-318, 2003.
- Guyton, A. C. *Tratado de fisiologia médica*. 8ed, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1992.
- Han, N.; Thompson, M. L. Copper-binding of dissolved organic matter derived from anaerobically digested biosolids. *J. Environ. Qual.* 28:939-944, 1999.
- Harris, D. C. *Quantitative Chemical Analysis*, 5ed, Freeman & Co, Nova Iorque, 2000.
- Harris, J. E. Characterization of suspended matter in the Gulf of Mexico. II. Particle size analysis of suspended from deep water. *Deep-Sea Res.* 24:1055-&, 1977.
- Harsh, J. B.; Doner, H. E. Specific adsorption of copper on an hydroxy-aluminium-montmorillonite complex. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 48:1034-1040, 1984.
- Hays, M. D.; Ryan, D. K.; Pennell, S. Multi-wavelength fluorescence-quenching model for determination of  $\text{Cu}^{2+}$  conditional stability constants and ligand concentrations of fulvic acid. *Appl. Spectrosc.* 57:454-460, 2003.
- Honeyman, B. D.; Santschi, P. H. Metals in aquatic systems. *Environ. Sci. Technol.* 22:862-871, 1988.
- Howard, A. G.; Statham, P. J. *Inorganic trace analysis: Philosophy and practice*. John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1993.
- Howarth, R. S.; Sprague, J. B. Copper lethality to rainbow trout in waters of various hardness and pH. *Water Res.* 12:455-462, 1978.
- Huang, C. P.; Rhoads, E. A.; Hao, O. J. Adsorption of Zn(II) onto hydrous aluminosilicates in the presence of EDTA. *Water Res.* 22:1001-1006, 1988.

- Hudson, R. J. M. Which aqueous species control the rates of trace metal uptake by aquatic biota? Observations and predictions of non-equilibrium effects. *Sci. Total Environ.* 219:95-115, 1998.
- Hunt, C. D. *Accuracy in analysis: Importance of clean metal sampling and analysis*. In: Allen, H. E.; Garrison, A. W.; Luther III, G. W. (Eds) *Metals in Surface Waters*. Ann Arbor Press, Chelsea, p107-131, 1997.
- IBGE. *Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2000*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Departamento de População e Indicadores Sociais, Rio de Janeiro, 2002.
- Imai, A.; Fukushima, T.; Matsushige, K.; Kim, Y. H. Fractionation and characterization of dissolved organic matter in a shallow eutrophic lake, its inflowing rivers, and other organic matter sources. *Water Res.* 35:4019-4028, 2001.
- Ismaili, M. M.; Belin, C.; Lamotte, M.; Texier, H. Distribution et caractérisation par fluorescence de la matière organique dissoute dans les eaux de la Manche centrale. *Oceanol. Acta* 21:645-676, 1998.
- Jin, Q.; Liang, F.; Zhang, H.; Zhao, L.; Huan, Y.; Song, D. Application of microwave techniques in analytical chemistry. *Trends Anal. Chem.* 18:479-484, 1999.
- Kister, J.; Pieri, N. Effects of preheating and oxidation on two bituminous coals assessed by synchronous UV fluorescence and FTIR spectroscopy. *Energy Fuels* 10:948-957, 1996.
- Kotas, J.; Stasicka, Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. *Environ. Pollut.* 107:263-283, 2000.
- Kotzias, D.; Beyerle-Pfnür, R. Characterization of humic substances by ESR spectroscopy. *Int. J. Radiat. Appl. Instrum. Part A.* 40:897-899, 1989.
- Krug, F. J.; *I workshop on methods of sample preparation*. Piracicaba, Brasil, 1996.
- Krusche, A. V.; Martinelli, L. A.; Victoria, R. L.; Bernardes, M.; Camargo, P. B.; Ballester, M. V.; Trumbore, S. E. Composition of particulate and dissolved organic matter in a disturbed watershed of southeast Brazil (Piracicaba River Basin). *Water Res.* 36:2743-2752, 2002.
- Kunz, A.; Jardim, W. F. Complexation and adsorption of copper in raw sewage. *Water Res.* 34:2061-2068, 2000.
- Lamble, K. J.; Hill, S. J.. Microwave digestion procedures for environmental matrices. *Analyst* 123:103-133, 1998.
- Lead, J. R.; Hamilton-Taylor, J.; Davison, W.; Harper, M. Trace metal sorption by natural particles and coarse colloids. *Geochim. Cosmochim. Acta* 63:1661-1670, 1999.
- Lee, S. Z.; Allen, H. E.; Sparks, D. L.; Sanders, P. F.; Peijnenburg, W. J. G. M. Predicting soil-water partition coefficients for cadmium. *Environ. Sci. Technol.* 30:3418-3423, 1996.
- Lin, C.; Lee, D.; Chen, W.; Lo, K. S. Fractionation of fulvic acids: characteristics and complexation with copper. *Environ. Pollut.* 87:181-187, 1995.
- Lloyd, J. B. F. Synchronized excitation of fluorescence emission spectra. *Nature Phys. Sci.* 231:64-65, 1971a.
- Lloyd, J. B. F. The nature and evidential value of the luminescence of automobile engine oils and related materials. Part III. Separated luminescence. *J. Forensic Sci. Soc.* 11:235-253, 1971b.
- Lombardi, A. T.; Jardim, W. F. Fluorescence spectroscopy of high performance liquid chromatography fractionated marine and terrestrial organic materials. *Water Res.* 33:512-520, 1999.
- Lu, Y.; Allen, H. E. Characterization of copper complexation with natural dissolved organic matter (DOM) – link to acidic moieties of DOM and competition by Ca and Mg. *Water Res.* 36:5083-5101, 2002.

- Lu, Y.; Allen, H. E. Partitioning of copper onto suspended particulate matter in river waters. *Sci. Total Environ.* 277:119-132, 2001.
- Luster, J.; Lloyd, T.; Sposito, G.; Fry, I. V. Multi-wavelength molecular fluorescence spectrometry for quantitative characterization of copper(II) and aluminum(III) complexation by dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 30:1565-1574, 1996.
- Luther III, G. W.; Theberge, S. M.; Rickard, D. T. Evidence for aqueous clusters as intermediates during zinc sulfide formation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 63:3159-3169, 1999.
- Ma, H.; Allen, H. E.; Yin, Y. Characterization of isolated fractions of dissolved organic matter from natural waters and a wastewater effluent. *Water Res.* 35:985-996, 2001.
- Machado, A. A. S. C.; Silva, J. C. G. E.; Maia, J. A. C. Multiwavelength analysis of synchronous fluorescence-spectra of the complexes between a soil fulvic-acid and Cu(II) *Anal. Chim. Acta* 292:121-132, 1994.
- Manahan, S. E. *Environmental Chemistry*. 7ed. Lewis Publishers, Boca Raton, 1999.
- Mansilla-Rivera, I.; Nriagu, J. O. Copper complexation and toxicity to phytoplankton in the Huron River, a Lake Erie tributary. *J. Great Lakes Res.* 29:105-115, 2003.
- Markich, S. J.; Brown, P. L. Relative importance of natural and anthropogenic influences on the fresh surface water chemistry of the Hawkesbury-Nepean River, south-eastern Australia. *Sci. Total Environ.* 217:201-230, 1998.
- Martin, J. M.; Dai, M.; Cauwet, G. Significance of colloids in the biogeochemical cycling of organic carbon and trace metals in the Venice Lagoon (Italy). *Limnol. Oceanogr.* 40:119-131, 1995.
- Martinez, C. E.; McBride, M. B., Solubility of  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , and  $\text{Zn}^{2+}$  in aged coprecipitates with amorphous iron hydroxides. *Environ. Sci. Technol.* 32:743-748, 1998.
- Masini, J. C.; Abate, G.; Lima, E. C.; Hanh, L. C.; Nakamura, M. S.; Lichtig, J.; Nagatomy, H. R. Comparison of methodologies for determination of carboxylic and phenolic groups in humic acids. *Anal. Chim. Acta* 364:223-233, 1998.
- McGeer, J. C.; Szebedinszky, C.; McDonald, D. G.; Wood, C. M. The role of dissolved organic carbon in moderating the bioavailability and toxicity of Cu to rainbow trout during chronic waterborne exposure. *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.* 133:147-160, 2002.
- Meylan, S.; Behra, R.; Sigg, L. Accumulation of copper and zinc in periphyton in response to dynamic variations of metal speciation in freshwater. *Environ. Sci. Technol.* 37:5204-5212, 2003.
- Miano, T. M.; Sposito, G.; Martin, J. P. Fluorescence spectroscopy of humic substances. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52:1016-1019, 1988.
- Mitchell, G. Mapping hazard from urban non-point pollution: a screening model to support sustainable urban drainage planning. *J. Environ. Manage.* 74:1-9, 2005.
- Monk, P. M. S. *Fundamentals of electroanalytical chemistry*. John Wiley & Sons, Nova Iorque, 2001.
- Morales, M. M.; Martí, P.; Llopis, A.; Campos, S.; Sagrado, S. An environmental study by factor analysis of surface seawaters the Gulf of Valencia (Western Mediterranean). *Anal. Chim. Acta* 394:109-117, 1999.
- Mota, S. *Urbanização e meio ambiente*. ABES, Rio de Janeiro, 1999.
- Mounier, S.; Patel, N.; Quilici, L.; Benaim, J. Y.; Benamou, C. Three-dimensional fluorescence of the dissolved organic carbon in the Amazon River. *Water Res.* 33:1523-1533, 1999.
- Müller, F. L. L. Evaluation of the effects of natural dissolved and colloidal organic ligands on the electrochemical lability of Cu, Pb and Cd in the Arran Deep, Scotland. *Mar. Chem.* 67:43-60, 1999.

- Müller, F. L. L. Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters. *Mar. Chem.* 52:245-268, 1996.
- Müller, F. L. L.; Gulín, S. B.; Kalvøy, A. Chemical speciation of copper and zinc in surface waters of the western Black Sea. *Mar. Chem.* 76:233-251, 2001.
- Müller, M. B.; Frimmel, F. H. A new concept for the fractionation of DOM as a basis for its combined chemical and biological characterization. *Water Res.* 36:2643-2655, 2002.
- Mylon, S. E.; Twining, B. S.; Fisher, N. S.; Benoit, G. Relating the speciation of Cd, Cu and Pb in two Connecticut rivers with their uptake in algae. *Environ. Sci. Technol.* 37:1261-1267, 2003.
- Nelson, Y. M.; Lion, L. W.; Ghiorse, W. C.; Shuler, M. L. Production of biogenic Mn oxides by *Leptothrix discophora* S-1 in a chemically defined growth medium and evaluation of their Pb adsorption characteristics. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:175-180, 1999.
- Neubecker, T. A.; Allen, H. E. The measurement of complexation capacity and conditional stability for ligands in natural waters: A review. *Water Res.* 17:1-14, 1983.
- Nieke, B.; Reuter, R.; Heuermann, R.; Wang, H.; Babin, M.; Theriault, J. C. Light absorption and fluorescence properties of chromophoric dissolved organic matter (CDOM), in the St. Lawrence Estuary (Case 2 waters). *Continental Shelf Res.* 17:235-252, 1997.
- Novotny, V.; Chesters G. *Handbook of non-point pollution: sources and management*. Van Nostrand-Reinhold, Nova Iorque, 1981.
- Nriagu, J. O. A history of global metal pollution. *Science* 272:223-224, 1996.
- Nriagu, J. O. Human influence on the global cycling of trace-metals. *Global Plan. Change.* 82:113-120, 1990.
- Oliveira, M. C.; Nogueira, R. F. P.; Neto, J. A. G.; Jardim, W. F.; Rohwedder, J. J. R. Sistema de injeção em fluxo espectrofotométrico para monitorar peróxido de hidrogênio em processo de fotodegradação por reação foto-Fenton. *Quim. Nova* 24:188-190, 2001.
- Pagenkopf, G. K.; Russo, R. C.; Thurston, R. V. Effect of complexation on toxicity of copper to fishes. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 31:462-465, 1974.
- Parlanti, E.; Morin, B.; Vacher, L. Combined 3D-spectrofluorometry, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the characterization of dissolved organic matter in natural waters. *Org. Geochem.* 33:221-236, 2002.
- Parlanti, E.; Wörz, K.; Geoffroy, L.; Lamotte, M. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Org. Geochem.* 31:1765-1781, 2000.
- Peart, M.; Walling, D. E. Fingerprinting sediment source: the example of a drainage basin in Devon, UK. In: Hadley R. F. (Ed), *Drainage basin sediment delivery*. IAHS Publication 159, IAHS Press, Wallingford, pp41-55, 1986.
- Perdue, E. M.; Reuter, J. H.; Ghosal, M. The operational nature of acidic functional group analyses and its impact on mathematical descriptions of acid-base equilibria in humic substances. *Geochim. Cosmochim. Acta* 44:1841-1851, 1980.
- Perminova, I. V.; Frimmel, F. H.; Kudryavtsev, A. V.; Kulinova, N. A.; Abbt-Braun, G.; Hesse, S.; Petrosyan, V. S. Molecular weight characteristics of humic substances from different environments as determined by size exclusion chromatography and their statistical evaluation. *Environ. Sci. Technol.* 37:2477-2485, 2003.
- Perona, E.; Bonilla, I.; Mateo, P. Spatial and temporal changes in water quality in a Spanish river. *Sci. Total Environ.* 241:75-90, 1999.
- Petersen, W.; Bertino, L.; Callies, U.; Zorita, E. Process identification by principal component analysis of river water-quality data. *Ecol. Model.* 138:193-213, 2001.



- Peuravuori, J.; Koivikko, R.; Pihlaja, K. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Water Res.* 36:4552-4562, 2002.
- Peuravuori, J.; Pihlaja, K. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Anal. Chim. Acta* 337:133-149, 1997.
- Peuravuori, J.; Pihlaja, K. Multi-method characterization of lake aquatic humic matter isolated with two different sorbing solids. *Anal. Chim. Acta* 363:235-247, 1998a.
- Peuravuori, J.; Pihlaja, K. Multimethod characterization of lake aquatic humic matter isolated with sorbing solid and tangential membrane filtration. *Anal. Chim. Acta* 364:203-221, 1998b.
- Pokrovsky, O. S.; Schott, J. Iron colloids/organic matter associated transport of major and trace elements in small boreal rivers and their estuaries (NW Russia). *Chem. Geol.* 190:141-179, 2002.
- Pothro, M. G. Memorandum: Office of Water Policy and Technological Guidance on interpretation and implementation of aquatic life metals criteria. U.S.EPA, Washington DC, 1993.
- Powell, H. K. J.; Fenton, E. Size fractionation of humic substances: Effect on protonation and metal binding properties. *Anal. Chim. Acta* 334:27-38, 1996.
- Prestes, E. C.; Anjos, V. E.; Sodré, F. F.; Grassi, M. T. Copper, lead and cadmium loads and behavior in urban stormwater runoff in Curitiba, Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.* No Prelo, 2005.
- Pullin, M. J.; Cabaniss, S. E. Rank analysis of the pH-dependent synchronous fluorescence spectra of six standard humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 29:1460-1467, 1995.
- Repeta, D. J.; Quan, T. M.; Aluwihare, L. I.; Accardi, A. Chemical characterization of high molecular weight dissolved organic matter in fresh and marine waters. *Geochim. Cosmochim. Acta* 66:955-962, 2002.
- Rocha, J. C.; Rosa, A. H. *Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas*. Editora Unesp, São Paulo, 2003.
- Rocha, J. C.; Zara, L. F.; Rosa, A. H.; Sargentini Jr, E.; Burba, P. Substâncias húmicas: sistema de fracionamento sequencial por ultrafiltração com base no tamanho molecular *Quim. Nova* 23:410-412, 2000.
- Rozan, T. F.; Benoit, G. Geochemical factors controlling free Cu concentrations in river water. *Geochim. Cosmochim. Acta* 63:3311-3319, 1999.
- Rozan, T. F.; Benoit, G.; Marsh, H.; Chin, Y. P. Intercomparison of DPASV and ISE for the measurement of Cu complexation characteristics of NOM in freshwater. *Environ. Sci. Technol.* 33:1766-1770, 1999a.
- Rozan, T. F.; Benoit, G.; Luther III, G. W. Measuring metal sulphide complexes in oxic rivers waters with square wave voltametry. *Environ. Sci. Technol.* 33:3021-3026, 1999b.
- Rozan, T. F.; Lassman, M. E.; Ridge, D. P.; Luther III, G. W. Evidence for iron, copper and zinc complexation as multinuclear sulphide clusters in oxic rivers. *Nature*. 406:879-882, 2000.
- Ruzic, I. Theoretical aspects of the direct titration of natural waters and its information yield for trace metal speciation. *Anal. Chim. Acta* 140:99-113, 1982.
- Ruzic, I. Trace metal complexation at heterogeneous binding sites in aquatic systems. *Mar. Chem.* 53:1-15, 1996.
- Ryan, D. K.; Thompson, C. P.; Weber, J. H. Comparison of  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ , and  $Cu^{2+}$  binding to fulvic acid as measured by fluorescence quenching. *Can. J. Chem.* 61:1505-1509, 1983.
- Ryan, D. K.; Weber, J. H. A fluorescence quenching titration technique for the determination of complexing capacities and stability constants of fulvic acid. *Anal. Chem.* 53:969-973, 1982a.

- Ryan, D. K.; Weber, J. H. Copper(II) complexing capacities of natural waters by fluorescence quenching. *Environ. Sci. Technol.* 16:866-872, 1982b.
- Sansalone, J. J.; Buchberger, S. G. Characterization of solid and metal element distributions in urban highway stormwater. *Water Sci. Technol.* 36:155-160, 1997a.
- Sansalone, J. J.; Buchberger, S. G. Partitioning and first flush of metals in urban roadway storm water. *J. Environ. Eng.* 123:134-143, 1997b.
- Sañudo-Wilhelmy, S. A.; Rivera-Duarte, I.; Flegal, A. R. Distribution of colloidal trace metals in the San Francisco Bay estuary. *Geochim. Cosmochim. Acta* 60:4933-4944, 1996.
- Sargentini Jr, E.; Rocha, J. C.; Rosa, A. H.; Zara, L. F.; Santos, A. Substâncias húmicas aquáticas: fracionamento molecular e caracterização de rearranjos internos após complexação com íons metálicos. *Quim. Nova* 24:339-344, 2001.
- Sawyer, C. N.; McCarty, P. L.; Parkin, G. F. *Chemistry for environmental engineering*. 4 ed McGraw-Hill, Nova Iorque, 1994.
- Scarano, G.; Bramanti, E.; Zirino, A. Determination of copper complexation in sea water by a ligand competition technique with voltammetric measurement of the labile metal fraction. *Anal. Chim. Acta* 264:153-162, 1992.
- Scarano, G.; Romei, C.; Seritti, A.; Zirino, A. Ethylenediamine in the voltammetric determination of copper in sea water at a rotating mercury film electrode. *Anal. Chim. Acta* 245:177-181, 1991.
- Scatchard G. The attractions of proteins for small molecules and ions. *Am. NY. Acad. Sci.* 51:660-672, 1949.
- Schäfer, A. I.; Schwicker, U.; Fischer, M. M.; Fane, A. G.; Waite, T. D. Microfiltration of colloids and natural organic matter. *J. Membr. Sci.* 171:151-172, 2000.
- Seitz, R. Fluorescence methods for studying speciation of pollutants in water. *Trends Anal. Chem.* 1:79-83, 1981.
- Senesi, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part 2. The fluorescence spectroscopy approach. *Anal. Chim. Acta* 232:77-106, 1990a.
- Senesi, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals: Part 1. The electron spin resonance approach. *Anal. Chim. Acta* 232:51-75, 1990b.
- Shi B.; Allen H. E.; Grassi M. T.; Ma H. Modeling copper partitioning in surface waters. *Water Res.* 32:3756-3764, 1998.
- Shi, B.; Sengupta, A. K. Selective alum recovery from clarifier sludge: a new two-step process using composite membranes. In: *Water research for the new decade, 1991 Annual Conference Proceedings*, American Water Works Association, Filadélfia, p23-27, 1991.
- Sigg, L. Partitioning of metals to suspended particles. In: Allen, H. E.; Garrison, A. W.; Luther III, G W. (Ed), *Metals in surface waters*. Ann Arbor Press, Chelsea, p221-239, 1998.
- Sigg, L. Regulation of trace elements in lakes: The role of sedimentation. In: Buffle, J.; De Vitre, R. R. (Ed), *Chemical and Biological Regulation of Aquatic Systems*. CRC Press, Boca Raton, p177-197, 1994.
- Silva, J. C. G. E.; Machado, A. A. S. C.; Oliveira, C. J. S.; Pinto, M. S. S. D. S. Fluorescence quenching of anthropogenic fulvic acids by Cu(II), Fe(III), and  $\text{UO}_2^{2+}$ . *Talanta* 45:1155-1165, 1998.
- Sodré, F. F.; Costa, A. C. S.; Lenzi, E. Utilização de modelos físico-químicos de adsorção no estudo do comportamento do cobre em solos argilosos. *Quim. Nova* 24:324-330, 2001.

- Sondi, I.; Pravdic, V. The colloidal and surface chemistry of clays in natural waters. *Croact. Chem. Acta* 71:1061-1074, 1998.
- Sparks, D. L. *Environmental Soil Chemistry*. Academic Press, San Diego, 1995.
- Stiff, M. J. Chemical states of copper in polluted fresh water and a scheme of analysis to differentiate them. *Water Res.* 5:585-8, 1971.
- Stumm, W. *Chemistry of the solid water interface – processes at the mineral-water and particle-water-interface in natural systems*. John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1992.
- Stumm, W.; Morgan, J. J. *Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters*. 3ed, John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1996.
- SUDERHSA. *Qualidade das águas interiores do Estado do Paraná: 1987-1995*. Curitiba, 1997.
- Sunda, W.; Guillard R. R. L. The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton. *J. Mar. Res.* 34:511-529, 1976.
- Taebe, A.; Droste, R. L. Pollution loads in urban runoff and sanitary wastewater. *Sci. Total Environ.* 327:175-184, 2004.
- Takács, M.; Alberts, J. J.; Egeberg, P. K. Characterization of natural organic matter from eight Norwegian surface waters: proton and copper binding. *Environ. Int.* 25:315-323, 1999.
- Tchobanoglous, G.; Burton, F. L. *Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse*. Metcalf & Eddy Inc. McGraw Hill, Nova Iorque, 1991.
- Templeton, D. M.; Ariese, F.; Cornelis, R.; Danielsson, L. G.; Muntau, H.; van Leeuwen, H. P.; Łobiński, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. *Pure Appl. Chem.* 72:1453-1470, 2000.
- Tessier, A.; Fortin, D.; Belzile, N.; DeVitre, R. R. Metal sorption to diagenetic iron and manganese oxyhydroxides and associated organic matter: narrowing the gap between field and laboratory measurements. *Geochim. Cosmochim. Acta* 60:387-404, 1996.
- Thurman, E. M.; Malcolm, R. L. Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 15:463-466, 1981.
- Tipping, E.; Cooke, D. The effects of adsorbed humic substances on the surface charge of goethite (-FeOOH) in freshwaters. *Geochim. Cosmochim. Acta* 46:75-80, 1982.
- Town, R. M.; Filella, M. A comprehensive systematic compilation of complexation parameters reported for trace metals in natural waters. *Aquat. Sci.* 62:252-295, 2000.
- Tsihrintzis, V. A., Hamid, R. Modeling and management of urban stormwater runoff quality: a review. *Water Resour. Manage.* 11:137-164, 1997.
- Tucci, C. A. E. M. Drenagem Urbana. *Cienc. Cult.* 55:36-37, 2003.
- Twiss, M. R.; Errecalde, O.; Fortin, C.; Campbell, P. G. C.; Jumarie, C.; Denizeau, F.; Berkelaar, E.; Hale, B.; van Rees, K. Coupling the use of computer chemical speciation models and culture techniques in laboratory investigations of trace metal toxicity. *Chem. Spec. Bioavail.* 13:9-24, 2001.
- U.S.EPA, <http://www.epa.gov/owow/nps/facts/point1.htm>, Acessado em junho de 2005.
- U.S.EPA, Interim guidance on interpretation and implementation of aquatic life criteria for metals. Washington DC, 1992.
- U.S.EPA. *Method 1669 - sampling ambient water for determination of trace metals at EPA Water Quality Criteria level*. Washington DC, 1996.
- Unsal, T.; Ok, S. S. Description of characteristics of humic substances from different waste materials. *Bioresour. Technol.* 78:239-242, 2001.

- Valeur, B. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, Wiley-VCH, Verlag, 2001.
- van den Berg, C. M. G. The electroanalytical chemistry of sea water. In: Riley, J. P. (Ed), *Chemical Oceanography*, Academic Press, Londres, v9, p197-245, 1988.
- van den Berg, C. M. G.; Kramer, J. R. Determination of complexing capacities of ligands in natural waters and constants of conditional stability constants of copper complexes by means of manganese dioxide. *Anal. Chim. Acta.* 106:113-120, 1979.
- Vasconcelos, M. T. S. D; Leal, M. F. C; van den Berg, C. M. G. Influence of the nature of the exudates released by different marine algae on the growth, trace metal uptake, and exudation of *Emiliania huxleyi* in natural seawater. *Mar. Chem.* 77:187-210, 2002.
- Vega, M.; Pardo, R.; Barrado, E.; Debán, L. Assessment of seasonal and polluting effects on the quality of river water by exploratory data analysis. *Water Res.* 32:3581-3592, 1998.
- Velasquez, I. B.; Jacinto, G. S.; Valera, F. S. The speciation of dissolved copper, cadmium and zinc in Manila Bay, Philippines. *Mar. Pollut. Bulletin.* 45:210-217, 2002.
- Verbanck, M.; Vanderborght, J. P.; Wollast, R. Major ion content of urban wastewater: An assessment of per capita loading. *Res. J. Water Pollut Control Fed.* 61:1722-1728, 1994.
- Vo-Dinh, T. Multicomponent analysis by synchronous luminescence spectrometry. *Anal. Chem.* 50:396-401, 1978.
- Walter, P. J.; Chalk, H. M.; Kingston, H. M. Overview of microwave-assisted sample preparation. In: Kingstone, H. M.; Haswell, S. J. (Eds), *Microwave Enhanced Chemistry: Fundamentals, Sample preparation and applications*. ACS, Washington DC, p55-222, 1997.
- Wang, G. S.; Hsieh, S. T.; Hong, C. S. Destruction of humic acid in water by UV light-catalyzed oxidation with hydrogen peroxide. *Water Res.* 34:3882-3887, 2000.
- Wang, G. S.; Liao, C. H.; Wu, F. J. Photodegradation of humic acids in the presence of hydrogen peroxide. *Chemosphere* 42:379-387, 2001.
- Warren, L. A. Haak, E. A. Biogeochemical controls on metal behaviour in freshwater environments. *Earth Sci. Rev.* 54:261-320, 2001.
- Webster, J. G.; Swedlund, P. J.; Webster, K. S. Trace metal adsorption onto an acid mine drainage iron (III) oxyhydroxy sulfate. *Environ. Sci. Technol.* 32:1361-1368, 1998.
- Wells, M. L.; Smith, G. J.; Bruland, K. W. The distribution of colloidal and particulate bioactive metals in Narragansett Bay, RI. *Mar. Chem.* 71:143-163, 2000.
- Westerhoff, P.; Anning, D. Concentrations and characteristics of organic carbon in surface water in Arizona: influence of urbanization. *J. Hydrol.* 236:202-222, 2000.
- Whitehouse, B. G.; Yeats, P. A.; Strain, P. M. Cross-flow filtration of colloids from aquatic environments. *Limnol. Oceanogr.* 35:1368-1375, 1990.
- WHO. *Environmental Health Criteria Monograph No. 200: Copper*. World Health Organization, Geneva, 1998.
- Williams, D. R. Chemical speciation contributing to research knowledge and everyday life. *Coord. Chem. Rev.* 185-186:177-188, 1999.
- Williams, M. R.; Filoso, S.; Martinelli, L. A.; Lara, L. B.; Camargo, P. B. Precipitation and river water chemistry of the Piracicaba River basin, southeast Brazil. *J. Environ. Qual.* 30:967-981, 2001.
- Windom, H. L.; Byrd, T.; Smith, R. G.; Huan, F. Inadequacy of NASQUAN data for assessing metal trends in the nation's river. *Water Res.* 28:1921-1931, 1991.
- Witters, H. E. Chemical speciation dynamics and toxicity assessment in aquatic systems, *Ecotoxicol. Environ. Safety* 41:90-95, 1998.

- Wu, J. S.; Allan, C. J.; Saunders, W. L.; Evett, J. B. Characterization and pollutant loading estimation for highway runoff. *J. Environ. Eng.* 124:584-592, 1998.
- Wu, J. S.; Holman, R. E.; Dorney, J. R. Systematic evaluation of pollutant removal by urban wet detention ponds. *J. Environ. Eng.* 122:983-988, 1996.
- Wu, Y. L.; Davidson, C. I.; Dolske, D. A.; Sherwood, S. I. Dry deposition of atmospheric contaminants to surrogate surfaces and vegetation. *Aerosol Sci. Technol.* 16:65-81, 1992.
- Wunderlin, D. A.; Díaz, M. D. P.; Amé, M. V.; Pesce, S. F.; Hued, A. C.; Bistoni, M. L. A. Pattern recognition techniques for the evaluation of spatial and temporal variations in water quality. A case study: Surquía River basin (Córdoba-Argentina). *Water Res.* 35:2881-2894, 2001.
- Xue, H. B.; Oestreich, A.; Kistler, D.; Sigg, L. Free cupric ion concentrations and Cu complexation in selected Swiss lakes and rivers. *Aquat. Sci.* 58:69-87, 1996.
- Xue, H. B.; Sunda, W. G. Comparison of  $[Cu^{2+}]$  measurements in lake water determined by ligand exchange and cathodic stripping voltammetry and by ion-selective electrode. *Environ. Sci. Technol.* 31:1902-1909, 1997.
- Xue, H. B.; Sigg, L. Cadmium speciation and complexation by natural organic ligands in fresh water. *Anal. Chim. Acta* 363:249-259, 1998.
- Yabe, M. J. S.; Oliveira, E. Metais pesados em águas superficiais como estratégia de caracterização de bacias hidrográficas. *Quim. Nova* 21:551-556, 1998.
- Zachara, J. M.; Resch, C. T.; Smith, S. C. Influence of humic substances on  $Co^{2+}$  sorption by a subsurface mineral separate and its mineralogic components. *Geochim. Cosmochim. Acta* 58:533-566, 1994.
- Zhang, H.; Davison, W. Direct *in situ* measurements of labile inorganic and organically bound metal species in synthetic solutions and natural waters using diffusive gradients in thin films. *Anal. Chem.* 72:4447-4457, 2000.
- Zsolnay, A. Dissolved organic matter: artifacts, definitions, and functions. *Geoderma*. 113:187-209, 2003.